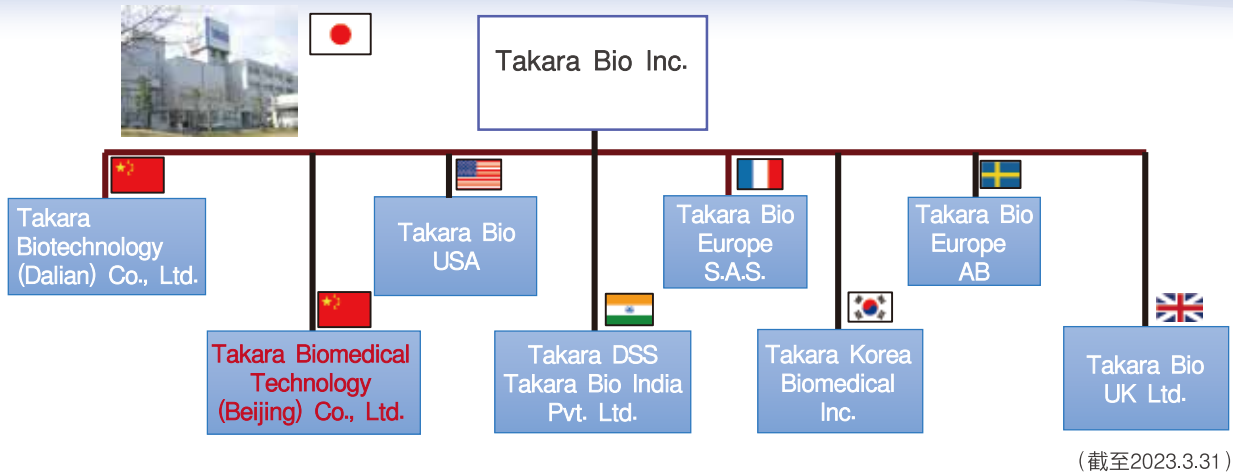




Takara 分子诊断定制解决方案  
2024版

that's  
**GOOD**  
science!™

Clontech **Takara** cellartis



宝生物工程（大连）有限公司是Takara Bio Inc.在中国的生产基地。

宝日生物技术（北京）有限公司负责Takara Bio Inc.旗下所有品牌在中国市场的宣传及销售，主要销售生物工程研究用的试剂和仪器（包括Takara、Clontech、Cellartis品牌），还开展以细胞治疗为中心的生物工程领域的技术开发与服务，销售细胞治疗和基因治疗相关产品。

## Takara集团发展史

1925年	成立宝酒造株式会社	2004年	· 中国宝日生物技术（北京）有限公司成立 · 在东京证交所Mothers Index上市
1970年	滋贺县大津市中央研究所竣工	2005年	收购美国 Clontech Laboratories Inc. (现为Takara Bio USA, Inc.)
1973年	斑玉蕈（一种食用菌）人工栽培技术导出，并商业化	2011年	印度DSS Takara Bio India Pvt. Ltd.成立
1979年	销售限制性限制酶、开始生物产业	2014年	· 收购Collectis AB (现为Takara Bio Europe AB) · 完成了基因·细胞处理中心的构建；全面开展CDMO业务，提供再生医疗产品的开发支持服务
1988年	在日本获得了使用PCR技术的基因扩增系统的独家经销权	2016年	变更为东京证交所一部上市
1993年	· 在全球范围内获得PCR相关专利许可，开始自行生产PCR产品 · 中国宝生物工程（大连）有限公司成立	2017年	收购Rubicon Genomics, Inc.和WaferGen Bio-systems, Inc. (后来合并到Takara Bio USA, Inc.中)
1995年	· 欧洲Takara Biomedical Europe S.A. (现为Takara Bio Europe S.A.S.) 成立 · 韩国Bohan Biomedical Inc. (现为Takara Korea Biomedical Inc.) 成立 · 开发了RetroNectin方法、用于造血干细胞中高效逆转录病毒转导	2018年	将NY-ESO-1·siTCR™ 指定为SAKIGAKE Designation System 产品
2000年	日本DRAGON GENOMICS CO., LTD. 成立（2002年合并）	2020年	· 开始销售体外诊断试剂Takara SARS-CoV-2 Direct PCR Kit · 将NY-ESO1·siTCR™ 指定为Orphan Regenerative Medicine
2002年	日本Takara Bio Inc.成立 接管宝酒造株式会社的生物技术业务	2021年	英国Takara Bio UK Ltd.成立
		2022年	变更为东京证交所主要市场上市

Takara为中国几千家生物技术、分子诊断、生物医药、生物健康等企业完整的解决方案，主要涉及四个大的方面，即

- 项目整体解决方案：**提供包括项目研发、项目产品化“一站式”解决方案。
- 贴牌生产（OEM）：**Takara为世界上许多知名的生物技术、生物医药、健康产品企业提供合同生产服务。我们在高端酶、分子诊断试剂盒成分、细胞生物学产品、生物化学品等领域提供合同生产解决方案。
- 按订单生产：**为机构客户提供灵活的客户定制生产。
- 高品质的Oligo合成：**Takara（中国）采用国际上先进的合成技术，使用高质量的合成试剂，严格按照国家准生产各种纯化级别的制品。宝生物工程（大连）有限公司采用ISO9001和ISO13485质量管理体系，严格管理整个生产过程，执行高标准的质量控制，保证每批次产品的质量稳定性。

诚挚欢迎您就业务合作与我们联系，请发邮件至[Bulkorder@takarabiomed.com.cn](mailto:Bulkorder@takarabiomed.com.cn)。

特别说明：本宣传册除特别标注外，实验结果均来自于Takara Bio Inc.



## 分子诊断

## PCR操作流程

- a) 样本制备.....1
- b) PCR扩增.....4

## 分子诊断

## 二代测序操作流程

- a) 样本制备.....17
- b) 文库制备.....18
- c) 文库定量.....20

## mRNA体外转录解决方案

- a) mRNA体外转录试剂盒.....22
- b) mRNA体外转录单酶产品.....23
- c) 基因工程疫苗研究.....26

## 肿瘤研究NGS建库解决方案

- a) 肿瘤相关样本RNA-Seq建库方案.....28
- b) 肿瘤相关样本DNA-Seq建库方案.....29

## 生殖健康研究NGS检测解决方案

- a) 单细胞全基因组扩增解决方案 .....31
- b) PGT-A分析解决方案.....31
- c) ESM样本的CNV评估解决方案 .....32

## 非洲猪瘟病毒检测解决方案

- a) Premix型产品定制及新品联合开发 .....34
- b) 非洲猪瘟病毒 (ASFV) 检测用引物、探针设计合成.....35
- c) 无需提取·直接qPCR.....35
- d) 样本粗提 & qPCR .....36
- e) 核酸提取 & qPCR .....37
- f) 其他关联产品推荐.....39
- g) qPCR检测仪器.....39

## Oligo合成服务

## ① 样本制备

## ② PCR扩增

## 样本制备

## 粗提裂解液

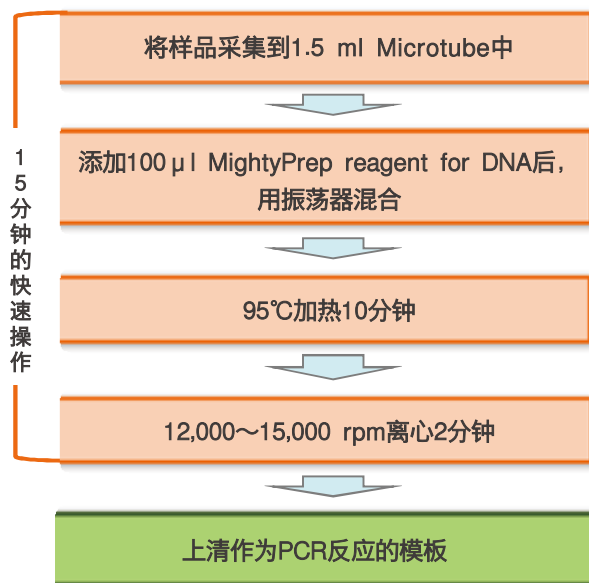
MightyPrep reagent for DNA是为了从小鼠尾等动物组织及植物组织、血液、加工食品、土壤、菌体等简便、高收量制备PCR用模板DNA的试剂。操作简便，仅需在样品中添加试剂后95℃加热，即可制备用于PCR反应的DNA提取液。

## 特点

- 添加试剂（MightyPrep reagent for DNA）后，仅需95℃加热10分钟即可简易提取DNA
- 仅一种添加试剂！可直接使用
- 与MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3及Tks Gflex™ DNA Polymerase配套使用，可对宽广范围内的样品进行PCR扩增

	MightyPrep reagent for DNA
原理	热提取
样品量 (在100 μl 本试剂中)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 血液 2~20 μl</li> <li>• 小鼠尾 1~2 mm</li> <li>• 植物组织 1~10 mm<sup>2</sup></li> <li>• 土壤 ~0.5 mg 等</li> </ul>
适用的 细菌、酵母	革兰氏阴性菌 <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella enterica</i> var. Enteritidis</li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> </ul> 革兰氏阳性菌 <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterococcus faecalis</i></li> <li>• <i>Bacillus subtilis</i></li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul> 酵母 <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Candida boidinii</i></li> <li>• <i>Candida tropicalis</i></li> <li>• <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 等</li> </ul>
操作时间	~15 分钟

## 操作流程



产品名称	概要	Code No.	包装量
MightyPrep reagent for DNA	粗提裂解液制备试剂，配合MightyAmp或Tks Gflex可高成功率地获取PCR扩增产物，得到的DNA提取液可进行多次实验	9182	20 ml
		9182S	2 ml

## 样本制备

### RNAiso 试剂



- 采用AGPC法提取试剂
- 特别推荐用于样品量多及大量回收Total RNA

使用RNAiso试剂提取Total RNA，全过程仅需1小时。提取的Total RNA纯度高，很少含蛋白质及基因组DNA，可以直接用于Northern杂交、mRNA纯化、体外翻译、RT-PCR等各种分子生物学实验。

#### ✓ 使用RNAiso Plus的标准Total RNA回收量


组织材料	样品量	Total RNA回收量
小鼠肝脏	1 g	约5,000 μg
小鼠肾脏	1 g	约3,000 μg
小鼠骨骼肌	1 g	约1,500 μg
小鼠脑	1 g	约1,500 μg
HL60培养细胞	1 × 10 <sup>7</sup> 个	约100 μg
烟叶	1 g	约1,000 μg
白细胞	1 × 10 <sup>7</sup> 个	20~40 μg
全血*	1 ml	15~20 μg

\* 100 μl全血使用1 ml RNAiso Plus。

注意：回收量因样品状态、匀浆条件等发生变化。

#### ✓ 使用RNAiso Blood的标准Total RNA回收量

组织材料	样品量	Total RNA回收量
人全血	0.25 ml	1~10 μg
小鼠全血	0.25 ml	1~10 μg
牛全血	0.25 ml	1~10 μg
鲤鱼全血	0.25 ml	10~100 μg
菠菜叶片	50 mg	30~60 μg
西红柿果实	50 mg	1~10 μg
橘子	50 mg	1~10 μg

产品名称	主要样本类型	Code No.	包装量
Sample Protector for RNA/DNA	动物组织、植物材料、培养细胞、酵母等的稳定剂	9750	100 ml
RNAiso Plus	动物组织、植物材料、各种微生物、培养细胞	9108/9109	100 ml/200 ml
RNAiso Blood	人或动物的血液及含水量较高的植物	9112/9113	100 ml/200 ml
RNAiso Easy 	动物组织、植物材料、各种微生物、培养细胞	TCH020/TCH021	100 ml/200 ml
DNAiso Reagent	动物组织、植物材料、各种微生物、培养细胞	9770A	100 ml

## MiniBEST 试剂

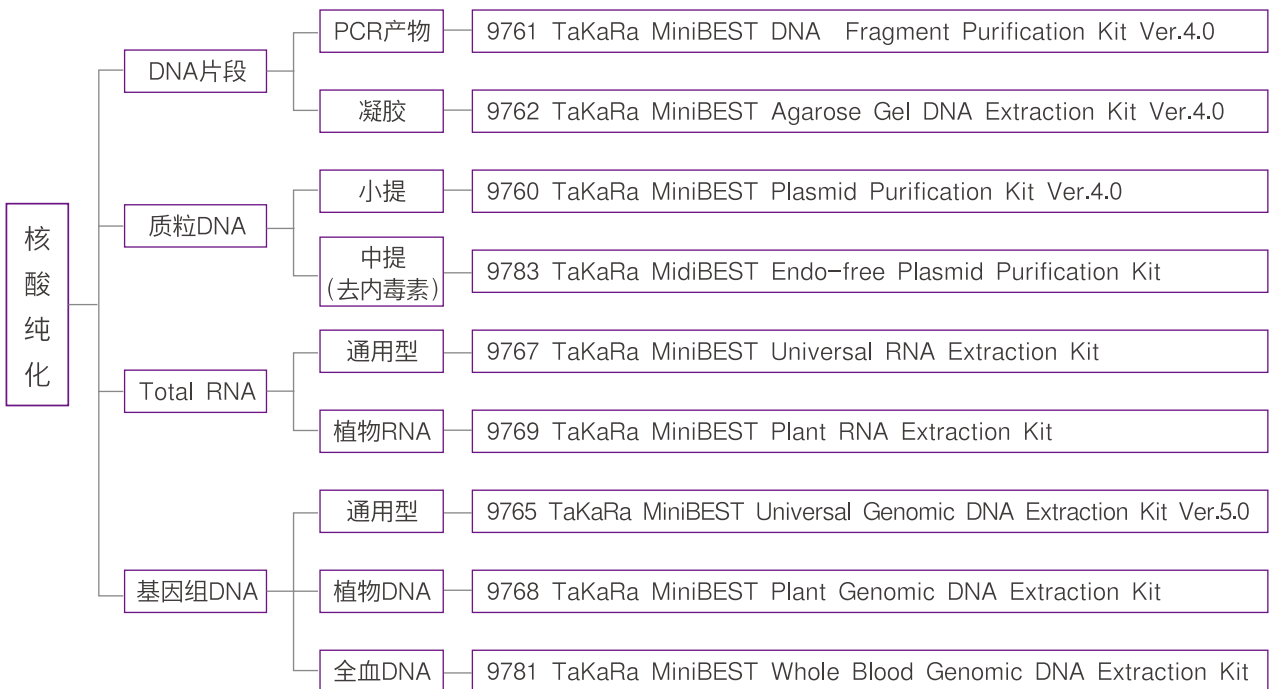


- 采用了特别的细胞裂解系统，无需苯酚氯仿抽提等步骤。
- 结合硅胶膜技术，具有高效、快速、方便之特点。
- 纯度较高，可直接用于各种分子生物学实验。

Takara柱式核酸提取产品系列，提取纯度高，方便易用。多年来，无数用户持续使用并在高影响因子的期刊上发表文献。

Code No.	样本类型	文献	发表期刊
9766	新冠病毒	Inhibition mechanism of SARS-CoV-2 main protease by ebsele and its derivatives	Nature Communications
9766	腺病毒	High-Efficiency Targeted Editing of Large Viral Genomes by RNA-Guided Nucleases	PLOS Pathogens
9766	单纯性疱疹病毒	Histidine-rich Modification of a Scorpion-derived Peptide Improves Bioavailability and Inhibitory Activity against HSV-1	Theranostics
9767	外泌体	Quantification of purified endogenous miRNAs with high sensitivity and specificity	Nature Communications
9767	培养细胞	BrlR from Pseudomonas aeruginosa is a receptor for both cyclic di-GMP and pyocyanin	Nature Communications

## MiniBEST系列丰富的产品线



## 反转录反应

产品名称	Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-)	PrimeScript™ Reverse Transcriptase	PrimeScript™ III Reverse Transcriptase
特点·用途	<ul style="list-style-type: none"> <li>通过基因重组技术克隆表达的缺失突变型RNase H-的M-MLV反转录酶</li> <li>本酶M-MLV (RNase H-) 的RNase H活性缺失, 延伸能力强, 可用于较长的cDNA合成以及高比例的全长cDNA文库的构建等</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>通过PrimeScript RTase的置换延伸活性可以合成背景很低的cDNA</li> <li>延伸性强</li> <li>高级结构的RNA也可以使用</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>具有更好的热稳定性, 可在更高的温度下进行反应</li> <li>适用于RT-LAMP</li> <li>更适用于复杂二级结构RNA起始的cDNA合成</li> </ul>
RNase H活性	-	-	-
高品质cDNA合成	★	★★	★★★
对反应抑制物的耐受性	★	★★	★★★
延伸性		~13.5 kb	
反应温度	42°C	42°C	42°C~55°C*
反应时间		30~60分	

\*: 50°C适用于大多数情况。当使用Gene specific primer或二级结构复杂的RNA模板时, 反应温度设为50~55°C, 可能得到更好的效果。

### Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-)

Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-) 通过基因重组技术克隆表达的缺失突变型RNase H-的M-MLV反转录酶。

本酶M-MLV (RNase H-) 的RNase H活性缺失, 延伸能力强, 可用于较长的cDNA合成以及高比例的全长cDNA文库的构建等。

#### 实验例:

Target: Mouse GAPDH。

Template: Mouse Liver Total RNA 经反转录反应后的cDNA溶液。

使用EASY Dilution (for Real Time PCR) (Code No. 9160) 将cDNA溶液按 $10^0, 10^1, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5$ 倍梯度稀释 (10倍梯度稀释) 后, 各取2  $\mu$ l进行Real Time PCR反应。此时25  $\mu$ l qPCR反应液中的cDNA添加量分别相当于从100 ng, 10 ng, 1 ng, 100 pg, 10 pg, 1 pg的Total RNA反转录得到的cDNA量。Negative Control的模板使用了灭菌水。

扩增长度: 108 bp。

使用仪器: Smart Cycler System。

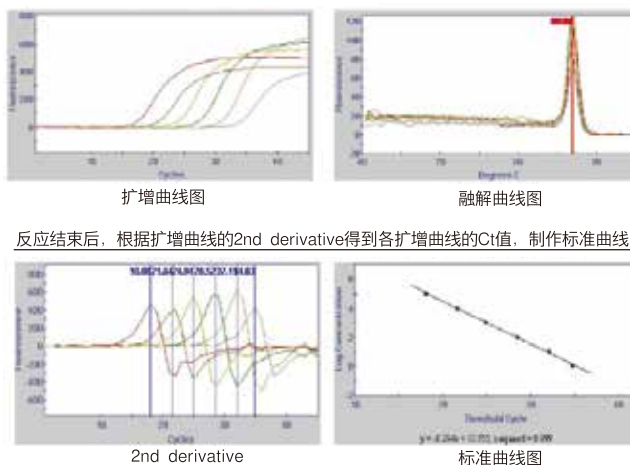
检测方法: 嵌合荧光法。

**结果:** 本实验检测到了Mouse Liver Total RNA 1 pg~100 ng相当量的cDNA。分析融解曲线可知, 无论哪一种浓度的模板都能够得到单一的qPCR扩增产物。同时标准曲线的线性关系良好, 在实验浓度范围内能够进行准确定量。说明M-MLV (RNaseH-) 能够真实无差别地进行反转录。

#### 用途:

- 1st-Strand cDNA 的合成。
- cDNA Probe 的制备。
- RT-PCR 反应以及Real Time RT-PCR反应

Real Time PCR扩增曲线图及融解曲线图如下:



反应结束后, 根据扩增曲线的2nd derivative得到各扩增曲线的Ct值, 制作标准曲线。

Code No.	产品名称	浓度 <sup>*1</sup>	包装量 <sup>*2</sup>
2641A	Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-)	200 U/ $\mu$ l (浓度可变更)	10,000 U
2641U			200,000 U

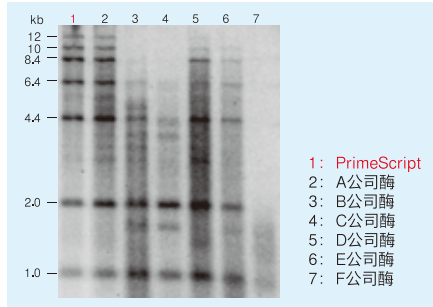
\*1: 可提供低甘油浓度定制品 (冻干用途)。

\*2: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## PrimeScript™ Reverse Transcriptase

- 可以进行高质量的cDNA合成
- 42°C反应(降低mRNA分解)
- 非常强的延伸能力
- 对复杂的高级结构RNA也可进行反应

### 可以合成高质量的cDNA



PrimeScript RTase在42°C下反应能够很好的合成cDNA。

以RNA Ladder (1、2、4.4、6.4、8.4、10、12 kb) 为模板, 分别使用 PrimeScript RTase及各公司反转录酶进行1st strand cDNA合成, 取一定量的cDNA进行变性凝胶电泳后, SYBR Green II染色, 再利用荧光图像分析仪FMBIO II进行检出。使用各公司推荐的条件进行反应。

结果表明, PrimeScript RTase不仅能够合成短链cDNA, 也能合成长链cDNA, 且合成的cDNA背景很低, 即可以合成全长比例很高的高品质cDNA。

## PrimeScript™ III Reverse Transcriptase

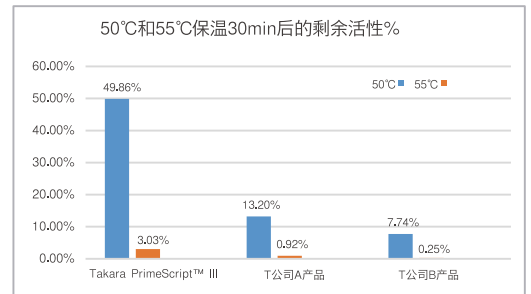
- 相对于PrimeScript RTase具有更好的热稳定性, 可在更高的温度下进行反应(~55°C)
- 更适用于复杂二级结构RNA起始的cDNA合成
- 适合于长链cDNA的合成及高比例的全长cDNA文库的构建
- 适用于RT-LAMP等

### 耐热性能更好

将PrimeScript™ III Reverse Transcriptase反转录产品与T公司的A产品和B产品分别在50°C和55°C温度下保温30 min再进行反应。

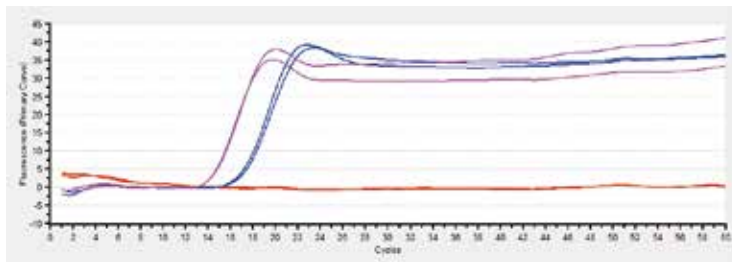
#### 【结果】

无论是50°C还是55°C, PrimeScript™ III Reverse Transcriptase的剩余活性(%)均明显高于T公司的反转录产品, 且在55°C时, T公司的反转录产品的活性非常低。



### RT-LAMP的应用

- RNA模板: Human Brain Total RNA
- Target Gene: ACTB actin beta [Homo sapiens (human)]
- 试剂: BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0(RR380A)+ 30U/rxn 本产品+TB Green Dye
- 反应温度: 63°C



模板量/rxn	Ct(CP)
0 (NTC)	--
0.1 ng	17.04
	17.30
1 ng	14.64
	14.70

#### 【结果】

PrimeScript™ III Reverse Transcriptase在RT-LAMP方面也具有较好的应用性能。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
2680A	PrimeScript™ Reverse Transcriptase	200 U/μl (浓度可变更)	10,000 U
TCH013	PrimeScript™ III Reverse Transcriptase		2,000 U
TCH004	PrimeScript™ III Reverse Transcriptase		10,000 U

\*1: 可提供低甘油浓度定制品(冻干用途)。

\*2: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。



## PCR反应-常规PCR

### 基础酶

#### TaKaRa Taq™

本品是94 kDa的耐热性DNA聚合酶。是把 *Thermus aquaticus* DNA Polymerase的基因经过克隆转化到大肠杆菌中进行表达后，分离提取得到的。它与天然的Taq DNA聚合酶具有相同的功能。

#### 特点：

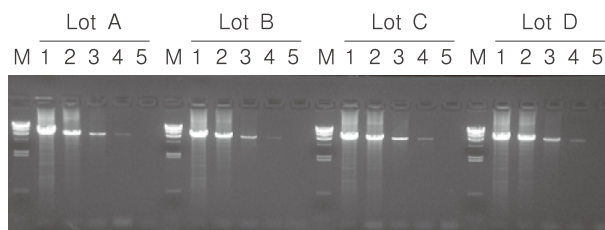
- PCR扩增基础酶
- 一般1 kb以下片段能得到很好的扩增
- 真实的活性定义
- 良好的批间差控制

#### 扩增片段的标准：

λ DNA: ~12 kb  
Human genome DNA: ~3 kb

#### 实验例：

##### 多批次间反应性能的比较



模板: λ DNA  
扩增链长: 8 kb  
模板量 (50 μl 反应体系):  
Lane 1: 1 ng  
2: 100 pg  
3: 10 pg  
4: 1 pg  
5: Negative Control  
M: λ-Hind III digest

PCR 条件:  
94°C 30 sec  
65°C 10 min } 30 Cycles

结果显示, 批次间无反应性能差异。

### 具有良好扩增效率和高通用性的PCR酶

#### TaKaRa Ex Taq®

本品是应用LA PCR原理研制的具有3'→5' Exonuclease活性 (Proof reading活性) 的耐热性DNA聚合酶。在普通PCR条件下, 与Taq DNA Polymerase相比, 具有扩增效率高、错配率低的优良性能。

#### 特点:

- 高灵敏度、高扩增量及高通用性
- 模板量非常少的情况下或含有杂质的反应体系中也能够发挥强大威力

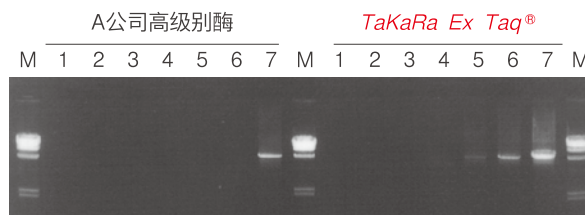
#### 扩增片段的标准:

λ DNA: ~30 kb  
Human genome DNA: ~20 kb

#### 实验例:

##### 不同模板量的PCR扩增比较

以人基因组DNA为模板, 与其他公司高级别PCR酶的扩增性能进行了比较。



扩增链长: 7.5 kb  
模板使用量 (50 μl 反应体系)  
Lane 1: 100 pg  
2: 300 pg  
3: 1 ng  
4: 3 ng  
5: 10 ng  
6: 30 ng  
7: 100 ng  
M: λ-Hind III digest

反应条件:  
94°C 1 min  
↓  
98°C 10 sec  
68°C 10 min } 30 Cycles

结果显示, TaKaRa Ex Taq®具有高出一个数量级别的灵敏度。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
R001WZ	TaKaRa Taq™	5 U/μl (浓度可变更)	10,000 U
RR001M	TaKaRa Ex Taq®		可变包装

\*1: 可提供无甘油定制品 (冻干用途)。

\*2: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## PCR反应-热启动PCR

### Takara的Hot Start PCR酶……

#### 高效抑制非特异性扩增

在反应液温度达到高温前，抗体一直抑制聚合酶的活性。  
有效抑制PCR循环前由引物错配或引物二聚体产生的非特异性扩增。

#### PCR再现性高

可以在室温调制反应液（各组分置于冰上）。  
因为受反应液调制时的温度及时间的影响很小，所以减少了操作对结果的影响。

#### 不需要追加特殊的反应步骤

抑制聚合酶活性的抗体在PCR反应最初变性时就迅速失活，聚合酶活性得以完全恢复。与化学修饰的Hot Start PCR酶不同，不需要长时间的活性化步骤。

### TaKaRa Taq™ Hot Start Version

本制品是抗Taq单克隆抗体和TaKaRa Taq的混合制品，适用于Hot Start PCR。

#### 用途：

1. Hot Start PCR法扩增DNA。
2. DNA序列测定。

### TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version

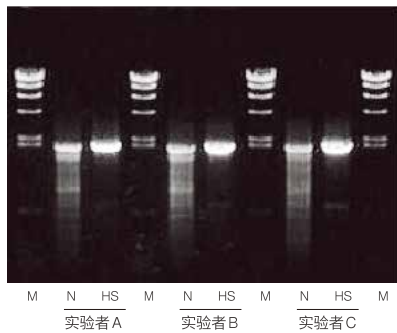
本制品是抗Taq单克隆抗体和TaKaRa Ex Taq的混合制品，适用于Hot Start PCR。热启动酶的理想选择。

#### 用途：

1. Hot Start PCR法扩增DNA。
2. 高通量PCR法扩增DNA。

### 普通酶与Hot Start Version的比较

3名实验者分别使用TaKaRa Ex Taq®及TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version，在相同的条件下进行PCR扩增。在室温进行反应液的配制（各组分置于冰上）。



模板 : Human genomic DNA  
Target : *DCLRE1A* (2 kb)  
装置 : Thermal Cycler Dice™ Standard  
PCR 条件: 98°C 10 sec  
55°C 30 sec  
72°C 2 min } 30 Cycles  
N : TaKaRa Ex Taq  
HS : TaKaRa Ex Taq Hot Start Version  
M : λ-Hind III digest

#### 【结论】

使用Hot Start Version可以很好地抑制非特异性扩增。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
R007WZ	TaKaRa Taq™ Hot Start Version	5 U/ μl (浓度可变更)	10,000 U
RR06WZ	TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version		10,000 U

\*1: 可提供无甘油定制品（冻干用途）。

\*2: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## PCR反应—热启动PCR

### Titanium® Taq DNA Polymerase

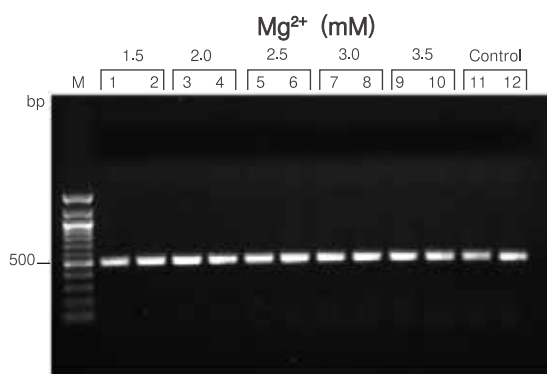
Titanium Taq DNA Polymerase是用于宽泛PCR应用的高度灵敏、强大的酶。它适用于任何DNA模板，包括细菌、质粒DNA、cDNA以及复杂基因组DNA。Titanium Taq包括Taq Start抗体，可提高产物的特异性和产量。

Titanium Taq DNA Polymerase缺乏野生型Taq的5'→3'核酸外切酶活性，这使得它比其他Taq聚合酶扩增性能更强大，并且可用于扩增高度复杂的DNA混合物。这种新型酶还包含精心设计的氨基酸替代物，增加其溶解度，使其成为高灵敏度的PCR聚合酶。

#### 特点:

- 更短循环圈数即可扩增目的片段，同时降低背景
- 无需优化反应条件—Titanium Taq可在宽广的Mg离子范围内进行扩增
- 可从高复杂模板中扩增2 kb靶基因，如人基因组DNA
- 可扩增珍贵或低拷贝基因

#### 1. Titanium Taq适用于更广泛范围的镁离子浓度



使用Titanium Taq 扩增Calf Thymus genomic DNA的500 bp片段。MgCl<sub>2</sub>的浓度如左图所示。

结果显示，Titanium Taq在左图所示的MgCl<sub>2</sub>浓度条件下，都能很好地扩增目的片段。

不同的目标基因可能需要不同的镁离子浓度，Titanium Taq适用于宽广范围的镁离子浓度，减少了体系优化时间。

#### 2. Titanium Taq适用于多重PCR



使用Titanium Taq 扩增Human genomic DNA的9个不同的片段。

Lanes 1-9使用不同的引物对分别扩增了不同的目的片段。

Lanes 12-14使用9对引物在一管内进行了多重PCR扩增。

多重PCR反应中，Titanium Taq有很好的扩增效率和特异性。

Code No.	产品名称	浓度	包装量*
639242	Titanium® Taq DNA Polymerase	NA	1,000 Rxns

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## PCR反应-抗阻害热启动Taq DNA聚合酶 (高灵敏度)

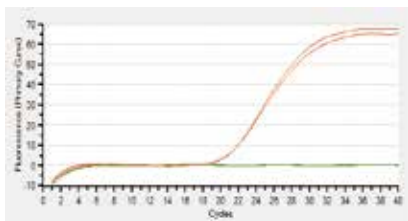
### Mighty Taq HS DNA Polymerase (High Sensitivity)

- 抗阻害效果好: 对化学物质耐阻害性强; 可对应多种粗提样品的扩增, 如血液、抗凝血、动物组织、植物组织、土壤等。
- 灵敏度高: 可满足低拷贝模板检测要求, 搭配优化的buffer, 特异性和灵敏度更高。
- 快速扩增: 支持快速反应程序, 最短可在30 min内 (仪器快速模式) 进行Real Time PCR分析, 提高检测效率。
- 兼容性广: 对于模板类型、模板GC含量和引物Tm值等具有广泛的兼容性, 且适合于End Point PCR和qPCR多种检测场景。
- 操作灵活: 本品包含酶和buffer两种组分, 可以根据样本阻害物含量, 灵活调整酶量以达到更好的扩增效果。

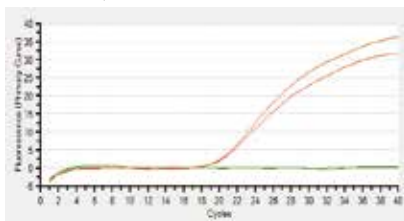
#### 抗阻害性评价-化学阻害物:

- ✓ 针对化学阻害物质, 选择具有代表性的腐殖酸、高铁血红素、SDS作为杂质背景。
- ✓ 使用对照品TaKaRa Taq™ Hot Start Version (R007A)和本产品, 对HL60 cDNA 进行hACTB基因扩增。

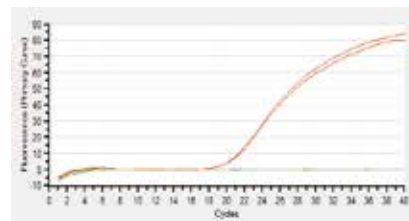
• 500 mg/L 水溶性腐殖酸



• 3000 μM Hematin porcine



• 0.5%SDS



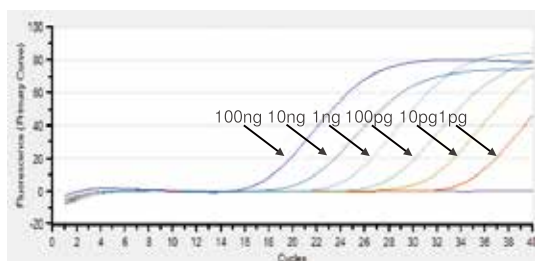
— 本产品    — 对照品 TaKaRa Taq HS (R007A)

#### 【结果】

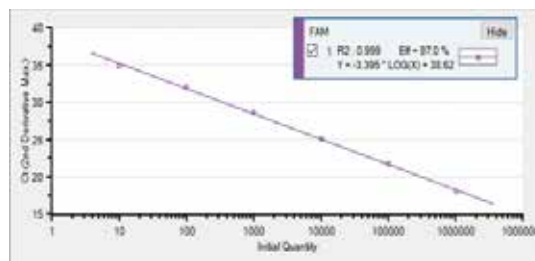
与R007A相比, 本产品具有强大的杂质耐受能力, 对于含化学阻害物样本可以成功扩增。

#### 检出感度确认:

- ✓ 以HL60 cDNA (1pg、10pg、100pg、1ng、10ng、100ng) 为模板, 使用本产品进行hACTB-186bp基因扩增, 确认检出感度。



扩增曲线



标准曲线

#### 【结果】

本产品具有良好的扩增灵敏度和广泛的模板定量范围, 线性关系良好。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
TCH015	Mighty Taq HS DNA Polymerase (High Sensitivity)	5 U/μl (浓度可变更)	50 U
TCH014			250 U

\*1: 可提供无甘油制品 (冻干用途)。

\*2: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## PCR反应—高保真PCR

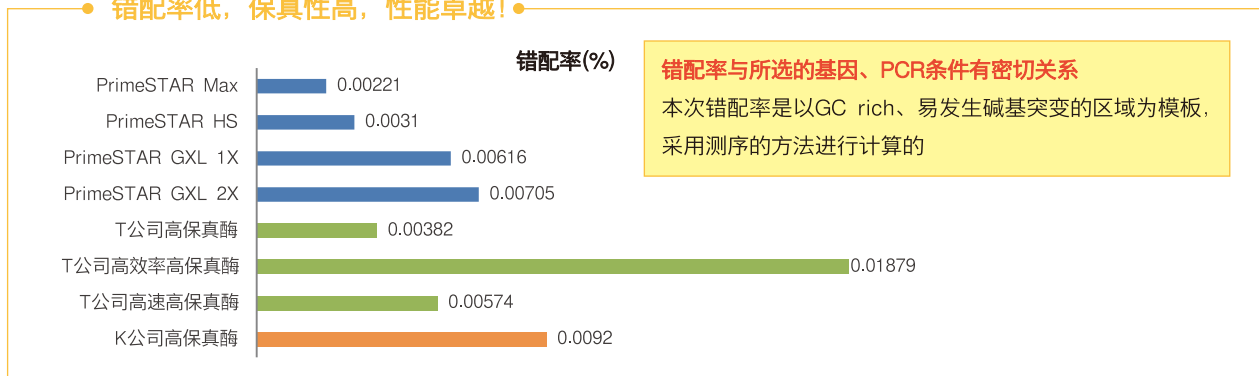
### PrimeSTAR® 系列的基本特点

酶	GC or AT rich 模板的扩增	延伸速度	模板添加量范围	扩增片段大小标准 (人基因组DNA)	PCR产物的末端形状	Hot Start
PrimeSTAR® HS	★★★	★★	★★	≤8.5 kb	平滑末端	○ (使用抗体)
PrimeSTAR® Max	★★★	★★★★★	★★★★(★)*	≤6 kb		
PrimeSTAR® GXL	★★★★★	★★★★(★)**	★★★★★	≤30 kb		

\* 当延伸时间延长至1 min/kb时,可以增加模板使用量。

\*\* 当酶的使用量提高至2倍时,可进行延伸速度为10 sec/kb的高速PCR反应。

#### ● 错配率低, 保真性高, 性能卓越! ●



### 高通用性、高保真性的PCR酶

#### PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase

PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase可简单地对以往高保真酶难以扩增的GC rich模板进行PCR扩增及从高浓度cDNA中检测出低表达量的基因等。当酶的使用量提高至2倍时, 可进行延伸时间为10 sec/kb的高速PCR反应。

#### 特点:

- 长链扩增
  - 通用性高
  - 反应速度快
- 【扩增片段的标准】  
λ DNA: ~40 kb  
Human genome DNA: ~30 kb

### 高速、高保真性的PCR酶

#### PrimeSTAR® Max DNA Polymerase

PrimeSTAR® Max DNA Polymerase是兼具快速延伸性和高保真性的DNA聚合酶。利用酶自身的高priming效率和特别添加的延伸因子, 可大幅缩短退火时间和延伸时间, 实现高速PCR反应。同时是PrimeSTAR®系列产品中保真性最高的DNA聚合酶。

#### 特点:

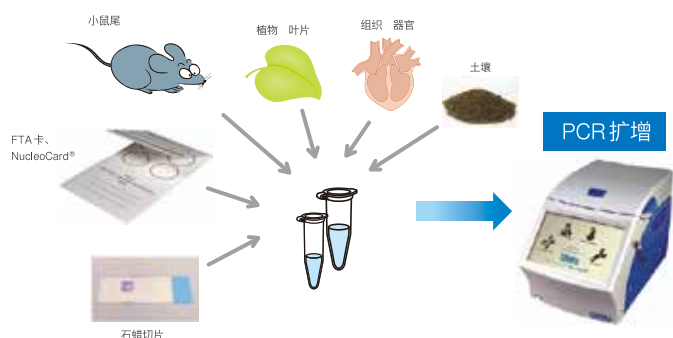
- 操作简便
  - 反应速度快
  - 保真性高
- 【扩增片段的标准】  
λ DNA: ~15 kb  
Human genome DNA: ~6 kb

Code No.	产品名称	浓度	包装量*
R050A	PrimeSTAR® GXL DNA Polymerase	1.25 U/ μl	50 μl反应 × 200 次
R051A	PrimeSTAR® GXL Premix	NA	50 μl反应 × 200 次
R052A	PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus		50 μl反应 × 200 次
R045A	PrimeSTAR® Max DNA Polymerase		50 μl反应 × 100 次
R040A	PrimeSTAR® HS (Premix)		50 μl反应 × 100 次
R044A	PrimeSTAR® HS DNA Polymerase with GC Buffer		2.5 U/ μl
R010A	PrimeSTAR® HS DNA Polymerase	2.5 U/ μl	250 U

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## PCR反应-直接PCR

### MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3



#### 特点:

- 直接PCR
- 适用于粗提样品
- 扩增能力强

【扩增片段的标准】  
Direct PCR: ~2 kb

MightyAmp DNA Polymerase是追求高反应性能开发的PCR酶，由于本酶具有很强的扩增性能，对于使用普通PCR酶难以扩增的样品，也显示出很好的扩增能力，如含有大量PCR阻害物的生体粗提样品。本样品是在MightyAmp DNA Polymerase基础上改良后的制品，与Ver.2相比，这种改良后的PCR酶和Buffer组合使用，可进一步增强酶对PCR阻害物的抵抗力。此外，也提高了血液、动植物组织等生物体样品直接加入到反应液中进行Direct PCR的反应性能。无论是PCR阻害物含量较多的粗提样品，还是GC Rich、AT Rich的模板均可在宽广的模板范围内进行有效扩增。根据需要可将试剂盒中附带的10× Additive for High Specificity添加到PCR反应液中可提高PCR扩增的特异性和检测灵敏度。

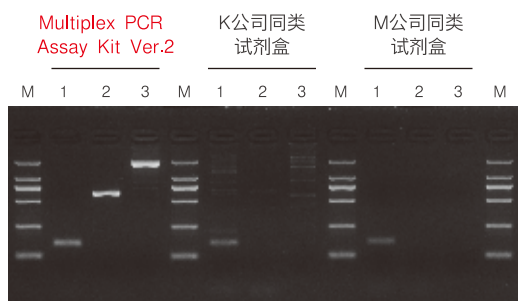
## PCR反应-多重PCR

### Multiplex PCR Assay Kit Ver.2

本制品是高速Priming性DNA聚合酶与可提高引物退火特异性的反应液配套组成的Multiplex试剂盒，是多重PCR专用试剂盒，与以往的多重PCR试剂盒相比，可在更短时间内进行特异性高且扩增序列偏好性少的PCR反应。通过调整酶用量和反应时间可进行200对引物的多重PCR反应。



#### 兼具高反应效率与高特异性!



1 : *LRP5* 155 bp  
2 : *JUN* 604 bp  
3 : *TGFB1* 2,004 bp  
M : DL2,000 DNA Marker

模板: 人基因组DNA 100 ng/50 μl反应体系  
使用各公司推荐反应条件

对于易产生非特异性扩增的引物，使用该产品时可以得到特异性好且效率高的目的基因。

Code No.	产品名称	浓度	包装量*
R076A	MightyAmp™ DNA Polymerase Ver.3	1.25 U/ μl	250 U
RR062A	Multiplex PCR Assay Kit Ver.2	NA	100 次

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## PCR反应—兼具RTase & DNA polymerase活性的PCR酶

### TaKaRa Tth

本品是把 *Thermus thermophilus* HB-8 DNA Polymerase 的基因经过克隆转化到大肠杆菌中进行表达后分离提取得到的，它与天然 *Tth* DNA 聚合酶具有相同的功能。

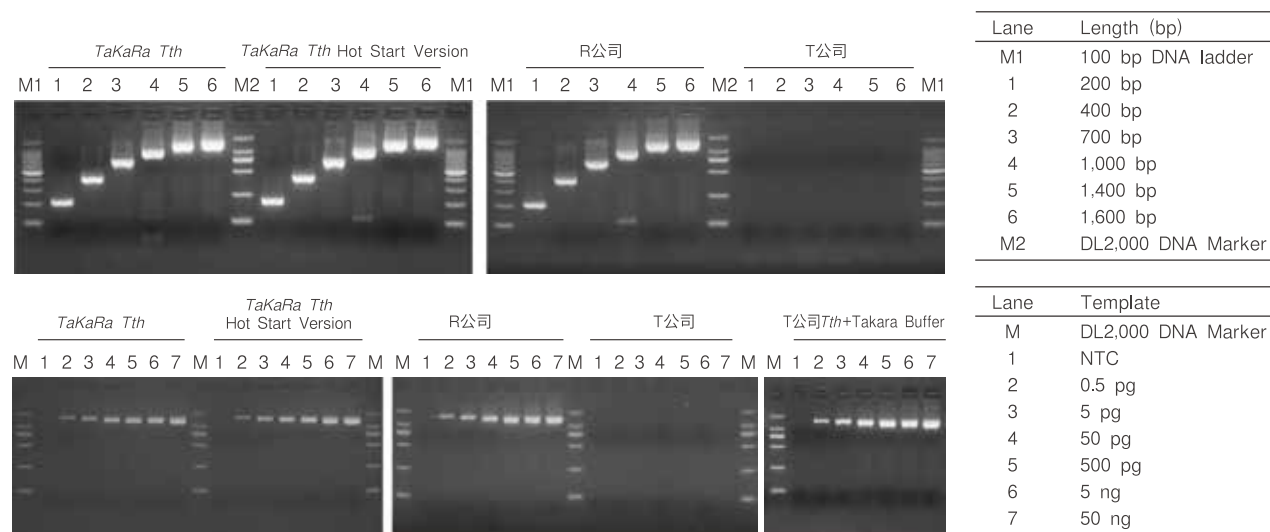
本酶具备一般耐热性DNA聚合酶的特性，无3'→5' DNA外切酶活性，且在Mn<sup>2+</sup>离子存在的条件下，即便在高温条件下也可以显示反转录活性，利用该特性，可用该酶在同一管中进行反转录反应与PCR反应（1-STEP RT-PCR）。

#### 用途：

1. PCR法扩增DNA
2. 1-STEP RT-PCR

### 性能：PCR扩增敏感度

Template: lambda DNA



*TaKaRa Tth*/*TaKaRa Tth* HS扩增性能和R公司相当，T公司无扩增。

检出感度上，lambda 1.4 kb扩增，*TaKaRa Tth*/*TaKaRa Tth* HS和R公司产品0.5 pg能够检出，T公司酶+Takara buffer可以成功扩增。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
R510M	<i>TaKaRa Tth</i>	5 U/μl	可变包装
R520A	<i>TaKaRa Tth</i> Hot Start Version	5 U/μl	250U

\*1: 可提供无甘油定制品（冻干用途）。

\*2: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## 环介导等温扩增酶

### BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0

#### 制品特点

- 与普通PCR不同，反应温度恒定
- 反应速度快，节省时间和精力
- 利于微量样本检测
- 结果易于可视化，无需昂贵的仪器

#### 制品用途

- 可用于LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 实验
- 可用于多种LAMP检测体系，如实时荧光法、免疫层析法、显色法等
- 需搭配荧光染料和实时PCR装置进行Real-Time LAMP/Real-Time RT-LAMP\*
- 需搭配指示剂、色素或结合免疫色谱法 (lateral-flow assay) 进行可视化检测

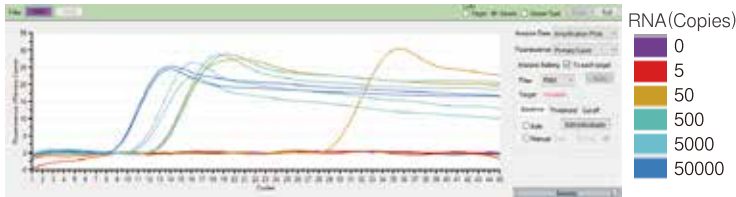
\*RT-LAMP 可通过与前述PrimeScript™ III Reverse Transcriptase结合使用进行RT-LAMP实验。

#### LAMP应用场景例

- 通用传输介质中直接检测SARS-CoV-2
- 人类和昆虫丝虫病检测
- 应用领域中食品和水质检测
- 人源样本中寨卡病毒的检测

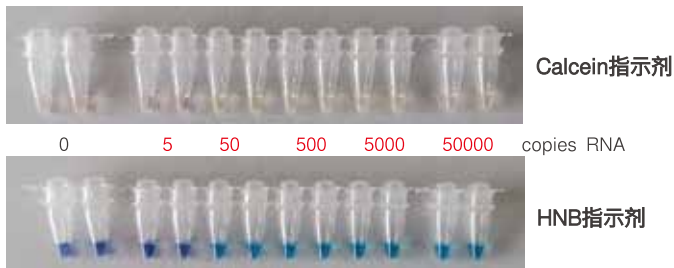
#### 应用案例

##### 1、TB Green实时法：



RNA (Copies )	Ct值	
NC	---	---
5	---	---
50	29.5	13.2
500	13.1	13.3
5000	11.5	11.2
50000	9.3	9.2

##### 2、指示剂法：



##### 3、胶体金试纸法：20 μl反应液+80 μl HybriDetect Assay Buffer, HybriDetect Dipstick浸润2min以上，观测。



使用目前的RT-LAMP体系，结合几种实时和终点检测方法检测COVID-19 N gene RNA，检出感度均可达50 copies RNA/反应，检出效果较好。

Code No.	产品名称	浓度	包装量*
RR380A	BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0	8 U/ μl	1,600 U
RR380B(A × 5)	BcaBEST™ DNA Polymerase ver.2.0		8,000 U

\*其他包装定制可商谈。



## PCR扩增关联产品

### 可防止PCR假阳性反应UNG酶

#### Uracil DNA Glycosylase (UNG) , heat-labile

UNG酶可催化含有尿嘧啶的DNA链中的尿嘧啶碱基和糖磷酸骨架的N-糖苷键水解，释放游离尿嘧啶。本酶可作用于含有dU的单链或双链DNA，对RNA无活性。

PCR检测方法因其高灵敏度的特性，时常会发生被过去扩增的PCR产物污染而产生假阳性的现象。特别是采用End-point PCR方法，在食品、环境检测等方面应用时，由于相同的PCR反应重复操作而带来的假阳性风险更高，给结果判定造成很大影响。

持续使用 *TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus*，能够防止PCR产物污染造成的假阳性，提升基因检测的可信度。



使用含有dUTP替代dTTP的基质进行PCR扩增，其扩增产物嵌入了尿嘧啶碱基。

针对前一轮扩增产物嵌入了尿嘧啶碱基的产物的污染，用*Uracil-N-glycosylase (UNG)*处理，使含有尿嘧啶的扩增产物被降解，之后进行PCR反应，使只有检测样本来源的DNA作为模板被扩增。

防止假阳性产生！

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
2820M	Uracil DNA Glycosylase (UNG),heat-labile*1	2 U/ μl (浓度可变更)	可变包装
R013A	<i>TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus</i>	NA	200 次
4020U	dUTP	100 mM	10 ml

\*1: 可提供无甘油定制品（冻干用途）。

\*2: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

### 核糖核酸酶抑制剂

#### Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0

本品是猪肝RNA酶抑制剂重组蛋白的升级制品。本制品特性与猪肝或者人胎盘来源的Recombinant RNase Inhibitor (Code No. 2313) 相似。由于半胱氨酸易氧化变性，因此在制品升级时，通过对半胱氨酸残基引入突变，提高了本制品的稳定性。通过与RNase A形成 1: 1复合体，抑制RNase活性。该反应是可逆的，通过尿素及巯基类试剂能够解离复合体，使RNase复性而抑制剂不可逆失活。本制品属蛋白质性质，与其它竞争性抑制剂（核酸类、无机磷酸类）不同，可以很容易地通过苯酚处理将其从反应体系中除去。此外，本制品不抑制RNase H活性。

本品可以直接加入到RNA完整性十分重要的各种反应液中，如体外转录、RT-PCR等。

Code No.	产品名称	浓度*1	包装量*2
2315A	Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0	40 U/ μl	5,000 U
2315B			5,000 U x 5
2313U	Recombinant Ribonuclease Inhibitor		50,000 U
2313M			可变包装

\*1: 可提供低甘油浓度定制品（冻干用途）。

\*2: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## PCR扩增关联产品

### 酶保存的稳定剂

#### Bovine Serum Albumin (BSA)

本品是由小牛血清经过高度精制而成的，用于基因工程研究。

#### 用途：

本品作为稳定剂被用于Takara Bio限制酶和修饰酶的保存溶液和反应液中。

Code No.	产品名称	浓度	包装量*
2320	Bovine Serum Albumin (BSA)	20 mg/ml	1 ml

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

### PCR反应的底物

#### dNTP Mixture

可作为DNA聚合酶的底物使用。以溶液形式提供，可以提供四种独立包装的dNTP溶液，也可以提供dNTP混合液。

#### 质量控制：

No.	项目	dNTP、dATP、dGTP、dCTP、dTTP	dUTP
1	形态	水溶液 (Na盐)	Na盐溶液
2	pH	pH7~9	pH7.0 ± 0.1
3	纯度	≥98%	≥99%
4	PCR 检定	(1)以λ DNA为模板进行PCR反应 (扩增产物500 bp和20 kb)，确认扩增状况良好。 (2)以HL60细胞的RNA为模板，对TFR区域进行RT-PCR反应 (扩增片段4.4 kb)，确认扩增状况良好。	使用TaKaRa Taq Hot Start Version，以λ DNA为模板可很好地扩增8 kb的DNA片段。

Code No.	产品名称	浓度	包装量*	
4030	dNTP Mixture	各2.5 mM	1.28 ml	
4030N			16 ml	
4030U			100 ml	
4030M			可变包装	
4018		各10 mM	25 ml	
4019M			可变包装	
4030HM		25 mM	可变包装	
4026U	dATP	100 mM	10 ml	
4027U	dGTP		10 ml	
4028U	dCTP		10 ml	
4029U	dTTP		10 ml	
4020U	dUTP			10 ml
				10 ml

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## 冻干用产品解决方案

- 冻干产品由于可以室温保存和运输，受到很多分子诊断类客户的青睐
- Takara目前可以提供以下解决方案

方案	Takara可提供产品	客户应用
1	无甘油或低甘油定制品	(研讨) 添加保护剂、引物、探针进行冻干
2	含冻干保护剂产品 Lyo-Ready qPCR Master Mix	添加引物、探针直接冻干
3	根据客户要求为客户定制开发相关产品	需要客户提供具体QC标准

分类	No.	Code	品名	包装*	用途
可冻干	1	TCH002	Lyo-Ready qPCR Master Mix 	1 ml	可冻干的探针法 Real Time PCR (qPCR) 的专用试剂。
	.....	持续更新中			
冻干品	1	RR058A	Lyophilized HS Taq PCR Master Mix	24 Rxns	Hot Start PCR 法扩增 DNA 片段
	2	639282	High Fidelity PCR EcoDry™ Premix	24 Rxns	用于高产量, 高保真 PCR
	3	639280		48 Rxns	
	4	638519	Titanium Taq SP EcoDry Premix	48 Rxns	用于 Hot Start PCR 法扩增 DNA 片段, 高产量 PCR
	5	639278	High Yield PCR EcoDry Premix	24 Rxns	适用于各类 PCR 扩增
	6	639276		48 Rxns	
无甘油品	1	638517	50X Titanium Taq SP (Glycerol-Free)	250 µl	适用于各类 PCR 扩增
	2	638522	50X Titanium Taq SP DNA Polymerase (Low Tris, Glycerol-Free)	250 µl	
	3	XA0312	TaKaRa Taq™ (5 U/ µl, Glycerol Free)	250 U	PCR 法扩增 DNA
	4	XA0313	TaKaRa Taq™ (25 U/ µl, Glycerol Free)	250 U	
	5	XA0410	TaKaRa Taq™ HS (5 U/ µl, Glycerol-Free)	250 U	
	6	XA0263	TaKaRa Taq™ HS (25 U/ µl, Glycerol-Free)	1,250 U	
	7	XA0315	Uracil DNA Glycosylase (UNG), heat-labile (2 U/ µl, Glycerol free)	50 U	防止 Carryover 污染导致的假阳性
	8	XA0080	TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version (5 U/ µl, Glycerol Free)	5,000 U	PCR 法扩增 DNA
	9	XA0264	TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version (30 U/ µl, Glycerol Free)	600 U	PCR 法扩增 DNA
	10	XA0169	Alkaline Phosphatase (Shewanella) (1 U/ µl, Glycerol Free)	1,000 U	催化核酸分子脱掉 5' 磷酸基团。与 Exonuclease I 合用, 对 PCR 产物进行测序前处理。
低甘油品	1	XA0314	Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-) (200 U/ µl, 5% Glycerol)	5,000 U	用于反转录反应中 1st-Strand cDNA 的合成
	2	XA0235	Recombinant RNase Inhibitor (40 U/ µl, 5% Glycerol)	40,000 U	用作 RNA 起始的相关反应中 RNase 活性抑制剂
	3	XA0262	Recombinant RNase Inhibitor (300 U/ µl, 5% Glycerol)	6,000 U	

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

① 样本制备

② 文库制备

③ 文库定量

## 二代测序的一般操作流程

## 样本制备

RNA起始: RNAiso试剂、MiniBEST系列  
DNA起始: MiniBEST系列



## 反转录反应 (起始样本为RNA时)

Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-)  
PrimeScript系列



## 核酸片段化 (DNA起始 or cDNA起始)

DNA Fragmentation Kit



## 末端修复和adaptor连接

T4 DNA Polymerase  
DNA Polymerase I (*E. coli*)  
T4 Polynucleotide Kinase  
Klenow Fragment (Large Fragment *E. coli* DNA Polymerase I)  
T4 DNA Ligase



## 选择片段的大小



## PCR扩增

高保真PrimeSTAR系列  
多功能Tks-Gflex



## 文库纯化



## 文库定量

Library Quantification Kit



## NGS测序

 样本制备

样本制备请见第2-3页, [RNAiso系列](#) & [MiniBEST系列](#)的详细介绍。

## 文库制备

### 反转录反应（起始样本为RNA时）

对于RNA样本，需要进行反转录反应合成cDNA。反转录酶请见4-5页，Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-) & PrimeScript™ Reverse Transcriptase & PrimeScript™ III Reverse Transcriptase 的详细介绍。

### 核酸片段化

#### DNA Fragmentation Kit

本品是不需使用超声波破碎仪等特殊仪器、在酶的作用下对基因组DNA等长链DNA随机片段化、并对DNA片段进行末端平滑化处理的试剂盒。

Code No.	产品名称	包装量*
6137	DNA Fragmentation Kit	20 次

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

### 末端修复和adaptor连接

核酸片段化是随机的，会出现末端不平整的情况，需要进一步的末端修复并添加adaptor，以便用于后续的测序和建库。

用途及特点	产品名称	Code No.	包装量*
末端修复	T4 DNA Polymerase	2040A	100 U
		2040M	可变包装
	DNA Polymerase I ( <i>E. coli</i> )	2130A	500 U
		2130M	可变包装
	T4 Polynucleotide Kinase	2021A	1,000 U
		2021M	可变包装
加A反应	Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I)	2140A	200 U
		2140M	可变包装
加接头反应	T4 DNA Ligase	2011A	25,000 U
		2011M	可变包装

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

### T4 DNA Polymerase

在模板及引物存在的条件下，催化与模板互补的脱氧核苷酸依次选择性地连接在引物的3'-OH末端的反应。本酶还具有单链DNA特异性的3'→5'外切核酸酶活性，该活性比Klenow Fragment强100~1,000倍。本酶没有5'→3'的外切核酸酶活性。

#### 用途:

1. 利用较强的3'→5'的外切核酸酶活性，通过置换合成对DNA片段的3'末端进行标记。
2. DNA末端的平滑化。
3. 通过引物延伸法解析mRNA转录的起始点。

Code No.	产品名称	包装量*
2040A	T4 DNA Polymerase	100 U

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

### Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT)

本酶催化dNTP聚合于单链或双链DNA的3'-OH末端的反应，该反应不需要模板，但引物必须是至少有3个以上碱基的寡核苷酸。

#### 用途:

1. 通过Okayama-Berg法给载体或cDNA加上互补同聚尾。
2. 使用dNTP、ddNTP来标记DNA的3'末端。

Code No.	产品名称	包装量*
2230A	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase	300 U

\*: 上表仅列出部分包装量，其他包装定制可商谈。

## DNA Polymerase I (*E. coli*)

在模板和引物 (DNA或RNA) 存在的条件下, 以dNTP作底物, 沿5'→3'方向合成与模板互补的DNA。具有双链特异性的5'→3'外切核酸酶活性以及单链特异性的3'→5'外切核酸酶的活性。本酶是由带有编码*E.coli* DNA Polymerase I 基因的大肠杆菌精制而成的。

### 用途:

1. 与DNase I (Code No. 2270A/B) 一起使用, 进行切口平移 (Nick translation)。
2. 通过Okayama-Berg法合成cDNA的第二条链 (0.3 μg DNA Polymerase I 约为2.5 U)。

Code No.	产品名称	包装量*
2130A	DNA Polymerase I ( <i>E. coli</i> )	500 U

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## T4 Polynucleotide Kinase (T4 PNK)

本酶具有以下活性:

1. 5'-OH末端寡核苷酸的磷酸化及5'-P末端寡核苷酸的去磷酸化。
2. 磷酸交换反应

### 用途:

1. DNA及RNA 5'末端的标记。
2. 合成DNA接头 (Linker) 的5'末端磷酸化。

Code No.	产品名称	包装量*
2021A	T4 Polynucleotide Kinase	1,000 U

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## Klenow Fragment (Large Fragment *E. coli* DNA Polymerase I)

本酶在DNA模板和引物存在的条件下, 选择性地催化底物dNTP沿5'→3'方向合成与模板互补的DNA。本酶是从大肠杆菌中纯化得到, 其中克隆了2/3的*E.coli* DNA polymerase I基因片段 (3'端计算)。因此具有3'→5'外切酶活性, 但是没有5'→3'外切酶活性。

### 用途:

1. 双脱氧法DNA序列测定 (Sanger法)。
2. 双链DNA 5'突出末端的平滑化。
3. 寡核苷酸定向诱变 (Oligonucleotide directed mutagenesis) 中双链DNA的合成。
4. 使用随机引物进行DNA标记。

Code No.	产品名称	包装量*
2140A	Klenow Fragment (Large Fragment <i>E. coli</i> DNA Polymerase I)	200 U

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## T4 DNA Ligase

本酶催化相邻DNA链的5'-P末端和3'-OH末端以磷酸二酯键结合的反应, 需Mg<sup>2+</sup>和ATP作辅助因子, 分子量为62,000, 最适反应pH为7.6。本酶可以催化粘性末端之间和平滑末端之间的DNA的连接。

### 用途:

1. DNA片段和载体DNA的连接。
2. DNA片段和Linker或Adaptor DNA的连接。

Code No.	产品名称	包装量*
2011A	T4 DNA Ligase	25,000 U

\*: 上表仅列出部分包装量, 其他包装定制可商谈。

## 文库定量

为了获得高品质的Illumina二代测序数据，向流动槽中投入合适含量的文库至关重要。若是上样的文库量不足，则会导致较低的簇密度，降低测序产出；若上样量过多，则可能增加簇密度，导致低品质测序数据。

Library Quantification Kit 是一种高灵敏度、基于qPCR原理的文库定量试剂盒，该制品特异性的靶向Illumina平台的接头序列，能获得正确的文库定量结果。

### Library Quantification Kit

#### 制品特点：

1. 基于qPCR的方法，可以对低浓度的Illumina文库进行高灵敏度定量
2. 只特异性检出含有Illumina测序平台接头序列的DNA分子
3. 添加了四种已知浓度的标准样品



#### 实验流程：

##### 稀释文库

- 将DNA浓度稀释至标准曲线范围内 (0.1–10 pM)

##### 设置反应体系

- 准备反应混合液
- 将反应混合液分注至PCR管中，分别加入稀释好的DNA标准品、阴性对照及待测文库样本
- 将反应体系置于Real Time PCR仪内，开启反应

##### 获取结果

- 扩增曲线实时显示
- 反应结束
- 结果展示

Code No.	产品名称	包装量
638325	DNA Standards for Library Quantification	50 次
638324	Library Quantification Kit	500 次

## mRNA体外转录解决方案

mRNA是一段可以编码蛋白质的核苷酸序列，经翻译过程可以表达出各类蛋白质。

mRNA新冠疫苗的成功，显示了mRNA技术在生物医药领域的潜力与应用前景。灵活的设计和安全可控的生产流程等优势，使得越来越多的应用领域将目光投向mRNA技术，以寻求更多的机会与可能性。同样值得关注的是，稳定性、反应效率、递送等关键技术问题仍需进一步的探讨与深入研究。

Takara Bio Inc. 可以提供mRNA体外转录所需的多种酶类及研究工具，为mRNA技术研究者提供更多的优质选择。

Takara Bio Inc. 持续开发针对各研发阶段的酶产品，并计划依次发售，这些产品除常规研究所用试剂（RUO等级）外，还包括用于RNA药物和疫苗制造工序的工艺开发等预期场景的High Quality（HQ）等级产品、以及作为疫苗制造原材料的GMP等级产品等。

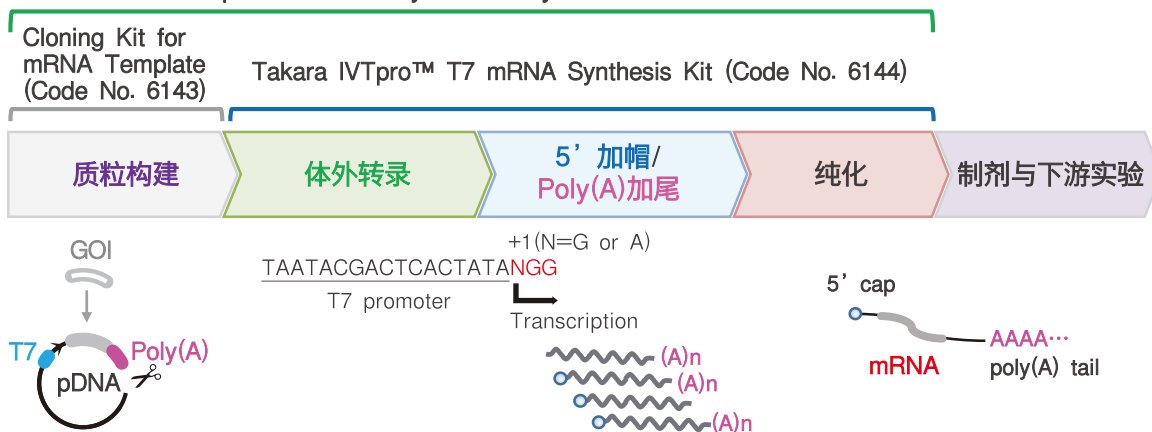
此外，本公司还可根据制造规模以批量定制的形式提供这些酶。

		基础研究	工艺开发	医药品制造
		RUO grade	HQ grade	GMP grade
各项无核酸酶检测		✓	✓	✓
纯度检测 内毒素、微生物污染、宿主细胞 DNA/RNA/蛋白质等		-	✓	✓
无动物源性原料	最终组成液	-	✓	✓
	一次原料	-	-	✓
无β内酰胺	最终组成液	-	✓	✓
	一次原料	-	-	✓
原材料（标准）		ISO 9001: 2015	ISO 9001: 2015	适用标准 (PIC/S GMP)
制造工序（标准）		ISO 9001: 2015	ISO 9001: 2015	PIC/S GMP



# mRNA体外转录试剂盒

## Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Code No. 6141)



mRNA体外转录解决方案

Takara推出mRNA体外转录一体化试剂盒Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (Code No. 6141) , 利用T7 RNA聚合酶与线性化DNA模板快速高效合成mRNA。试剂盒包含从DNA模板制备到mRNA体外转录实验所需主要工具, 适用于mRNA相关基础研究、疫苗、免疫治疗开发等应用项目。

- ✓ 通过体外转录合成带Cap结构和Poly(A)序列的mRNA。
- ✓ 优化的T7 RNA聚合酶用于体外转录反应, RNA合成效率高、产量大。
- ✓ 独立包装的NTPs, 方便修饰NTPs替换, 且不影响mRNA产量。
- ✓ 采用In-Fusion无缝克隆, 轻松构建模板质粒DNA。

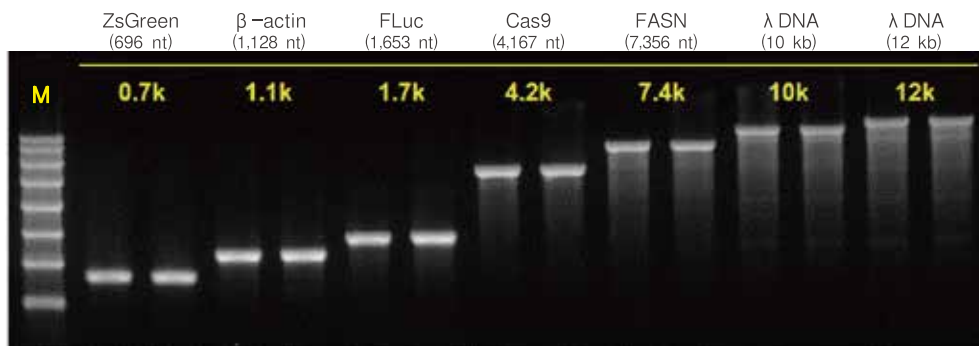
\*Cap类似物、修饰核苷酸、限制性内切酶不包含在本制品中, 请单独准备CleanCap Reagent AG (TriLink公司) 等试剂

特点	产品名称	Code No.	包装量
高产量套装, 包含6143+6144	Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System	6141	20 次
构建体外转录反应模板质粒	Cloning Kit for mRNA Template	6143	10 次*1
含T7 RNA聚合酶, 用于RNA合成	Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit	6144	20 次*2

\*1: 10 μl反应体系; \*2: 25 μl反应体系

## Takara IVTpro™ mRNA Synthesis System (6141)

### 转录长度测试



M: RNA Ladder

200 ng, 甲醛变性凝胶电泳

## mRNA体外转录单酶产品

## 质粒模板DNA构建

- In-Fusion无缝克隆
- 限制酶 *BspQ I*
- mRNA合成专用质粒
- 稳定克隆Poly(A) 的感  
受态细胞

## 体外转录

- T7 RNA聚合酶
- RNA酶抑制剂
- 无机焦磷酸酶
- DNase I

## 5' 加帽/Poly(A)加尾

- Vaccinia加帽酶
- 2'-O-甲基转移酶
- 多聚腺苷酸聚合酶
- RNase H

## 纯化及电泳

- RNA电泳相关
- 消化模板用DNase I

## 质粒模板DNA构建

## 1) 质粒快速无缝克隆构建

In-Fusion Snap Assembly是Takara推出的新一代无缝克隆试剂，仅需15分钟反应即可将1个或多个PCR片段按照设计要求连接到任意载体的任意位置，无需对PCR片段进行限制酶酶切、磷酸化等繁琐处理。实验效率和一致性表现良好，多片段克隆、高通量实验性能更佳。

特点	产品名称	Code No.	包装量*
高实验效率与一致性	In-Fusion® Snap Assembly Master Mix	638948	50 次
		638949	250 次
预分装即用型冻干品，可室温储存	In-Fusion® Snap Assembly EcoDry™ Master Mix	638955	32 次
		638956	96 次

\*: 10 μl反应体系

## 2) 质粒模板DNA线性化

*BspQ I* 识别位点



- ✓ 识别不对称特定双链DNA序列，在其外侧一定距离切割双链的Type II S限制性内切酶。
- ✓ 在mRNA体外转录模板的Poly(A)尾处不残留残余碱基，提高翻译效率。
- ✓ 反应体系中不含BSA。

特点	产品名称	Code No.	包装量*
mRNA体外转录模板线性化酶	<i>BspQ I</i> (10 U/μl)	1227A	500 U
		1227B	500 U × 5

\*: 其他包装定制可商谈。

## 3) 线性化质粒模板

- ✓ Template Vector (*BspQ I*) for T7 mRNA Synthesis是用于使用TriLink公司的帽类似物\*构建体外转录 (IVT) mRNA的模板质粒。
- ✓ 线性化的载体中包含T7启动子、转录起始序列 (AGG)、5' -UTR(untranslated region)和3' -UTR、Poly(A)序列 (141碱基)。
- ✓ 只需要对目的基因编码序列 (Coding sequence: CDS) 进行 In-Fusion无缝克隆，便可构建体外转录的模板质粒。

\*: TriLink公司帽类似物: CleanCap Reagent AG 或 CleanCap Reactive AG (3' OMe)

特点	产品名称	Code No.	包装量
体外转录用线性质粒模板	Template Vector ( <i>BspQ I</i> ) for T7 mRNA Synthesis	6146	10 μl

#### 4) 稳定克隆的感受态细胞

- ✓ Takara Stable Competent Cells通过破坏同源重组相关的遗传基因，来提高DNA的稳定性。
- ✓ 适用于克隆不稳定的DNA，包括Poly(A)序列和重复序列等。
- ✓ 由于本产品缺失T1噬菌体感染所需的fhuA遗传基因，因此对该噬菌体具有抗性。

特点	产品名称	Code No.	包装量
含Poly A序列质粒的稳定克隆	Takara Stable Competent Cells	9132	100 $\mu$ l $\times$ 10

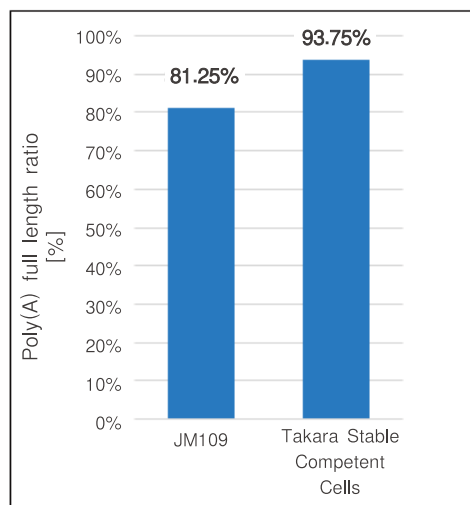
#### 实验例：Poly(A) 稳定性比较实验

##### 比较方法：

将质粒分别转化到JM109感受态细胞（Code No. 9052）和Takara Stable Competent Cells（Code No. 9132），并在LB平板中培养，分别挑取48个菌落提取质粒。对每个提取的质粒进行Sanger测序，并测量Poly(A)长度。

##### 结果说明：

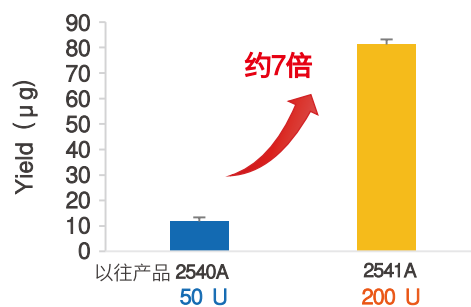
在48个质粒中，JM109得到39个具有Poly(A)完整长度的质粒（Poly(A) full length ratio:39/48=81.25%），Takara Stable Competent Cells得到了45个具有Poly(A)完整长度的质粒（Poly(A) full length ratio:45/48=93.75%）。该结果显示，与JM109相比，Takara Stable Competent Cells中Poly(A)的脱落频率降低。



图：Poly(A) 稳定性的比较

#### 体外转录

T7 RNA聚合酶以含有T7启动子序列的双链DNA为模板，NTPs为底物，转录启动子下游区域，合成与模板互补的单链RNA。



此外体外转录反应体系中还需用到RNA酶抑制剂、无机焦磷酸酶等，以保护mRNA产物、提高产量。

特点	产品名称	Code No.	包装量*1
高产量T7 RNA聚合酶	T7 RNA Polymerase ver.2.0 (200 U/ $\mu$ l)	2541A	20,000 U
	T7 RNA Polymerase, HQ*2	2542A	200,000 U
重组猪肝RNA酶抑制剂，高反应稳定性	Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 (40 U/ $\mu$ l)	2315A	5,000 U
		2315B	5,000 U $\times$ 5
焦磷酸酶，分解合成反应副产物PPi，促进反应进行	Pyrophosphatase (inorganic) (0.1 U/ $\mu$ l)	2450A	10 U
		2450B	10 U $\times$ 5
	Pyrophosphatase (inorganic), HQ*2	2451A	1,000 U

\*1: 其他包装定制可商谈。

\*2: HQ级别: 本产品的终反应液中，不含人或动物源性成分以及 $\beta$ 内酰胺类化合物。详见P21说明。

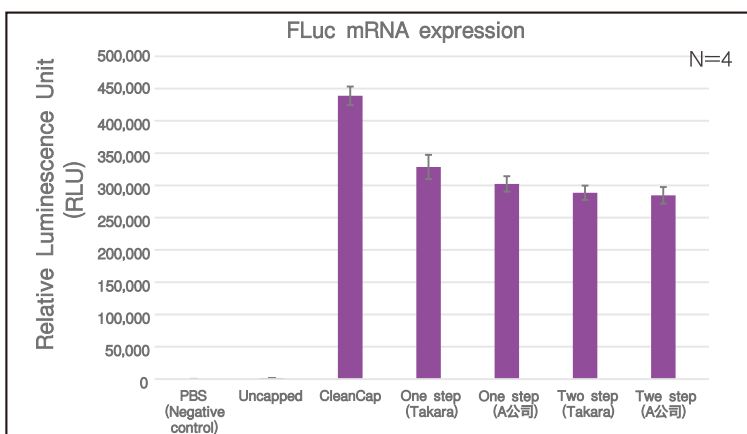
## 5' 加帽/Poly(A)加尾

真核生物中，帽结构对于mRNA的稳定性、翻译效率以及免疫原性起到重要作用。通过Vaccinia Capping Enzyme（源于牛痘病毒的加帽酶）可以在RNA 5'末端连接上7-甲基尿苷酸结构（m<sup>7</sup>G<sup>-</sup>, Cap 0）。进一步在mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase作用下，可在帽结构紧邻的第一个核苷酸2'-O上添加甲基基团，形成带Cap 1结构的mRNA。

特点	产品名称	Code No.	包装量*
RNA加帽酶，用于制备Cap 0结构的RNA	Vaccinia Capping Enzyme	2460A	500 U
		2460B	2,000 U
甲基化酶，用于制备Cap 1结构的RNA	mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase	2470A	2,500 U
		2470B	10,000 U
加帽率检测用酶	Ribonuclease H (RNase H)	2151	600 U
在RNA上加上Poly(A) 尾	Poly(A) Polymerase	2181	20 U

\*: 其他包装定制可商谈。

## 与其他公司同类型酶的5'端加帽效率比较：根据各公司产品操作说明使用



使用荧光素酶活性测定的方法，通过测量HEK293T中FLuc荧光表达水平（作为蛋白表达水平）来评估FLuc mRNA的5'加帽效率。对酶加帽后的RLU（相对发光单位）水平进行测定。

结果显示，使用CleanCap试剂共转录加帽法的RLU水平最高，无论一步法还是两步法，在表达水平上，Takara试剂都稍稍高于A公司。

## 纯化及电泳

特点	产品名称	Code No.	包装量*
本酶已除去了蛋白酶和核酸酶，提高了pH中性区域的稳定性，适用于RNA的制备	Recombinant DNase I (RNase-free)	2270A	1,000 U
		2270B	1,000 U × 5
以丝氨酸为活性中心的蛋白分解酶，适用于RNA提取	Proteinase K	9034	5 ml
长链ssRNA 的电泳中，用作RNA片段大小的标记	0.5–10 kb ssRNA Ladder Marker	3417A	50 μl

\*: 其他包装定制可商谈。

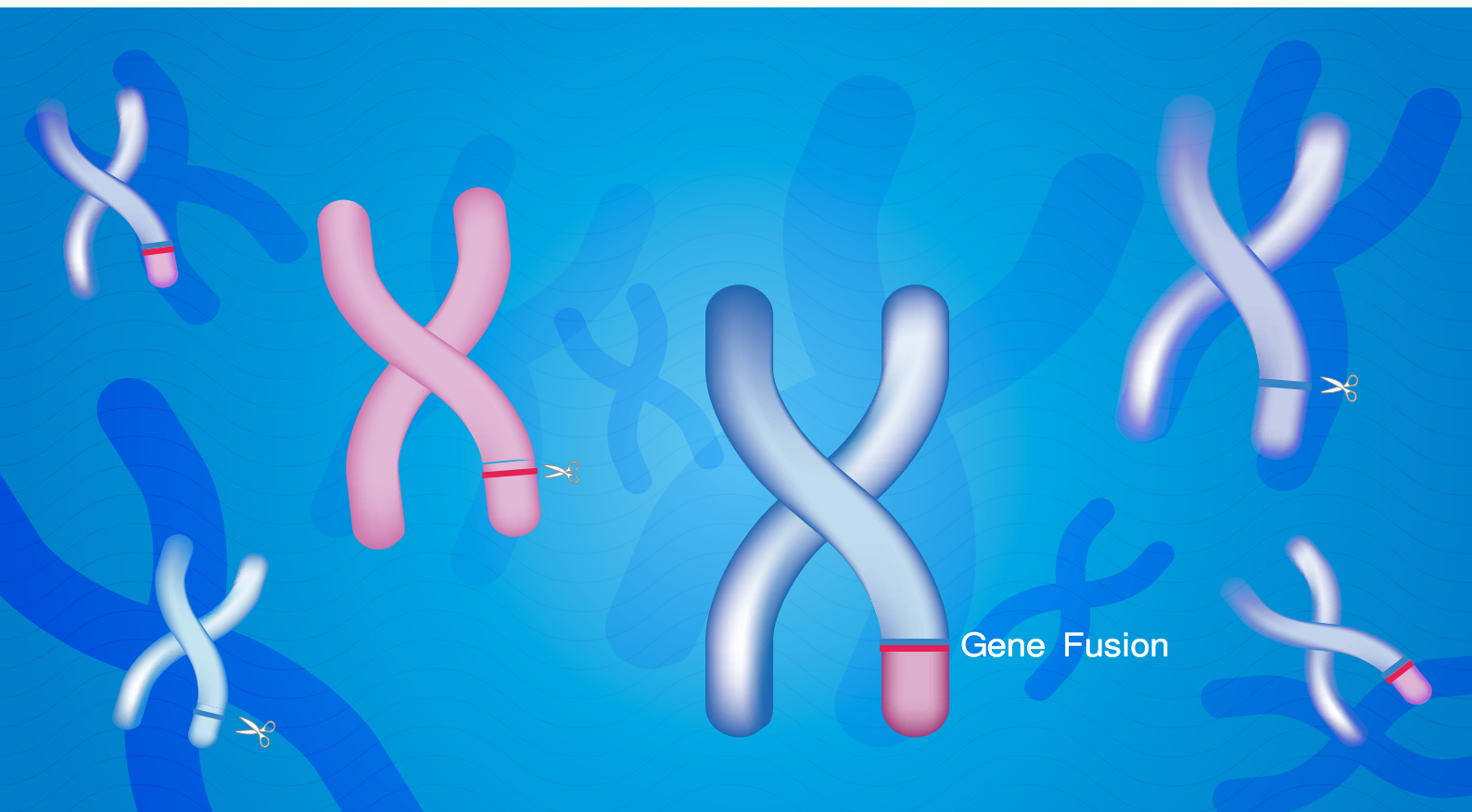
关于基因工程疫苗研究，Takara Bio提供一系列创新技术助力研发与生产工作，包括重组腺病毒疫苗及重组蛋白疫苗研发所配套的解决方案。

重组腺病毒载体疫苗就是利用基因工程技术，将编码病原体保护性抗原的基因导入到腺病毒载体中并使之表达的疫苗，通过这种疫苗把抗原基因带入人体细胞发挥免疫作用。在疫苗制备过程中，病毒载体的滴度测定尤为重要。相比于传统方法，Takara Bio的Titration Kit可助您在较短时间内确定合适的病毒滴度用于下游应用。

特点	产品名称	Code No.	包装量
一种功能滴度测定方法，基于腺病毒六邻体蛋白质进行测定	Adeno-X Rapid Titer Kit	632250	120 Titrations
一种使用定量PCR技术测定腺病毒滴度的方法，快速、简单、高效。	Adeno-X qPCR Titration Kit	632252	200 Rxns
一种即时灵敏（~10 min）的腺病毒滴度测定方法	Adeno-X GoStix	632270	20 Tests
一种利用Real Time PCR对腺相关病毒（AAV）的滴度进行定量的试剂盒	AAVpro <sup>®</sup> Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2	6233	100 Rxns

重组蛋白疫苗的研发包括利用测序和生物信息学分析病毒及宿主基因组以确定潜在的靶标，克隆和分离候选抗原决定簇，测试动物模型的免疫反应，最后对主要候选对象进行临床试验。其中，BacPAK杆状病毒表达系统常被用于表达目标蛋白质，而为了优化重组蛋白质的表达水平，可以使用BacPAK Baculovirus Rapid Titer Kit快速确定病毒的滴度。当靶蛋白表达出来后，可以使用我们的Capturem新型膜纯化技术来快速纯化His标签疫苗候选蛋白。

特点	产品名称	Code No.	包装量
一种采用免疫分析原理的杆状病毒快速滴度测定试剂盒	BacPAK <sup>™</sup> Baculovirus Rapid Titer Kit	631406	5 Assays
一种采用qPCR方法的杆状病毒滴度测定试剂盒	BacPAK <sup>™</sup> qPCR Titration Kit	631414	200 Rxns
采用新型Capturem膜技术，无需特殊设备即可完成His标签蛋白的快速纯化，快至5 min	Capturem <sup>™</sup> His-Tagged Purification 96	635714	96 well
	Capturem <sup>™</sup> His-Tagged Purification 24-Well Plate	635730	24 well



## 肿瘤研究NGS建库解决方案

分子诊断是目前发展较快的体外诊断细分领域，包括qPCR和NGS两大平台。其中NGS技术由于可在单一检测中同时分析与患者癌症相关的所有基因组改变及标志物，具有较高正确性，是未来的发展方向，已进入多样化应用场景，如肿瘤伴随诊断、肿瘤早期筛查等。

FFPE和游离核酸是目前肿瘤NGS分析常用的样本类型，但是它们往往存在核酸降解严重、含量低等特点，不适用于常规的建库方案，进而限制了下游的NGS分析。

Takara提供兼容降解微量样本、带分子标签(UMIs)的文库构建方案，助力肿瘤NGS研究。

## 肿瘤相关样本RNA-Seq建库方案

### SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v3 – Pico Input Mammalian

SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v3 – Pico Input Mammalian (Pico v3) 设计用于从皮克级总RNA(250 pg–10 ng)中高效制备Illumina测序文库。本试剂盒采用的技术适用于高品质、部分降解及低品质RNA (如来自于FFPE或LCM样品)。与上一代Pico v2相比, 提升了在Illumina测序平台的测序性能, 并且还添加特别的分子条形码(UMI), 从而可以消除PCR错误或duplication以及测序偏差。此外, 本试剂采用特别的ZapR & R-probes技术, 在文库制备过程中去除核糖体cDNA。

#### 制品特点:

1. 可以人、大鼠或小鼠来源的250 pg–10 ng的总RNA或10–1000个细胞起始
2. 添加UMIs, 校正来自PCR错误、重复序列以及序列错误的读取
3. 样本兼容性广泛, 能分析质量较差的FFPE、LCMI以及cfRNA来源的样本
4. 操作简便, 7.5h完成Illumina ready文库构建

#### 文库结构:



#### 实验案例:

为了探讨Pico v3在推荐的起始量范围内能否获得一致的性能, Takara科学家用单个捐献者所提供的肺癌癌旁组织 (NAT FFPE) 样本构建文库, 起始量范围500 pg–10 ng, 分别做两次技术重复。

Sequencing alignment metrics from 500 pg–10 ng total RNA								
RNA source	Human lung cancer total RNA (NAT FFPE)							
Input amount (ng)	0.5	1	5	10	0.5	1	5	10
Number of reads (millions)	4.0 (paired-end reads)							
Discarded reads (%)	5.9	3.6	2.7	2.3	1.2	1.1	4.7	4.3
Unique reads (%)	87	87	92	92	96	95	97	97
Overall mapping (%)	92	94	98	98	97	97	94	94
Number of transcripts $\geq 0.1$ TPM	41,245	42,290	44,189	44,217	44,814	44,301	44,051	45,067
Number of genes $\geq 1$ TPM	18,193	18,414	18,829	18,680	18,821	18,600	18,941	18,980
Strand specificity	92	92	92	92	92	92	92	92
Proportion of total reads (%)								
Exonic	21	22	22	22	21	21	14	21
Intronic	58	59	60	61	65	64	58	60
Intergenic	6.0	6.1	6.2	6.2	6.3	6.3	6.1	6.3
rRNA	5.8	6.4	6.1	6.2	5.5	5.1	6.5	6.0
Mitochondrial	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.8
Genomic	55	57	59	59	61	61	64	67
Duplicate	13	13	8	8	4	5	3	3

左表显示, 无论是不同技术重复, 还是样本之间, 测序结果均高度一致。平均能检测到43,778  $\pm$  1,352条转录本 ( $\geq 0.1$  TPM), 及18,690  $\pm$  276个基因 ( $\geq 1$  TPM)。值得注意的是, 数据中rRNA的残留维持在较低水平, 说明ZapR v3 & R-probes v3技术能高效去除人、大小鼠rRNA干扰!

Code No.	产品名称	包装量
634485	SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v3 – Pico Input Mammalian	24 次
634486		48 次
634487		96 次
634488		192 次

## 肿瘤相关样本DNA-Seq建库方案 ThruPLEX® Tag-Seq HV

ThruPLEX Tag-Seq HV是一种茎环接头带上带UMI且整合UDI建库的试剂盒，该产品具备单管流程、操作简便的特点，支持5~200 ng input DNA起始用于稀有变异分析！

### 制品特点：

1. 真·单管操作，全程只需1次磁珠纯化
2. 兼容降解的FFPE DNA、cfDNA起始，5-200 ng起始量范围，30 μl建库体积
3. 文库中每个DNA分子有144种可能的标签组合，提供更可靠正确的测序结果

### 操作流程：



### 案例展示：

Gene	Amino acid change	Expected allele frequency 0%	Expected allele frequency 1%	Expected allele frequency 5%			
EGFR	G719S	0.0%	0.0%	1.4%	1.5%	6.2%	5.9%
EGFR	L858R	0.0%	0.0%	1.0%	1.6%	5.5%	6.1%
EGFR	L861Q	0.0%	0.0%	0.7%	1.6%	2.2%	2.2%
KRAS	G12D	0.0%	0.0%	1.3%	0.5%	4.1%	3.7%
NRAS	Q61K	0.0%	0.0%	2.9%	1.9%	6.3%	4.8%
PIK3CA	E545K	0.0%	0.0%	0.4%	1.0%	4.2%	6.3%

Takara科学家用UMIs鉴定了ctDNA标准品中特定位点的实际突变频率，结果显示，检测到的突变频率分别与预期1%、5%的等位突变频率接近，而阴性对照组没有在位点处检测到任何突变。

Code No.	产品名称	包装量
R400742	ThruPLEX® Tag-Seq HV	24 次
R400743		96 次
R400784	ThruPLEX® Tag-Seq HV PLUS Kit*	24 次
R400785		96 次

\*ThruPLEX Tag-Seq HV PLUS Kit包含酶切片段化步骤，无需用机械法打断DNA

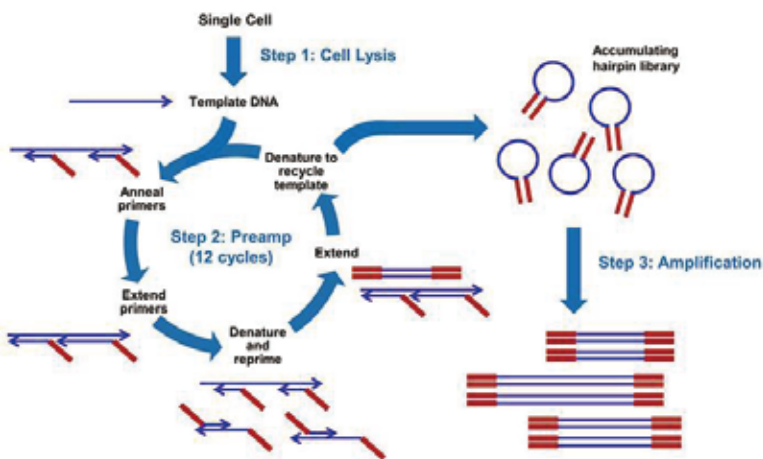


# 辅助生殖



## 生殖健康研究NGS检测解决方案

Takara致力于通过卓越的技术为生殖健康研究提供支持，倾力推出的PicoPLEX技术，可以单个细胞起始，获得高品质全基因组扩增产物用于下游应用。支持应用于PGT研究，也可以提供完整的PGT-A解决方案以及胚胎培养液（ESM）等非侵入性样品的CNV评估的完整流程。



Step 1: 细胞裂解

Step 2: 预扩增

采用Quasi-random primer选择性结合gDNA然后进行扩增。

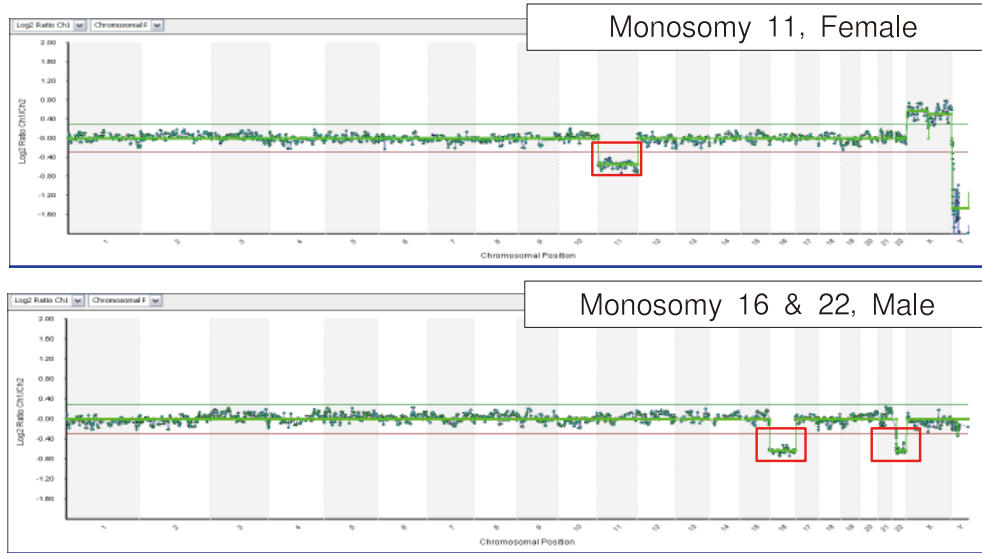
Step 3: 指数扩增

## 单细胞全基因组扩增解决方案

### PicoPLEX WGA Kit

- 单细胞或者6pg gDNA起始的**全基因组DNA扩增试剂盒**
- 单管反应、3小时，3步反应的简单操作流程（手动操作时间只需要15分钟）
- 适合**拷贝数变异（CNV）、染色体异倍性（aneuploidy）**的分析

#### 实验案例：



利用单卵裂球活体组织检查样品采用PicoPLEX WGA Kit扩增标记后，与BlueGnome®24sure® arrays杂交 (Genesis Genetics Institute)，结果清晰地显示了CNV。

## PGT-A分析解决方案

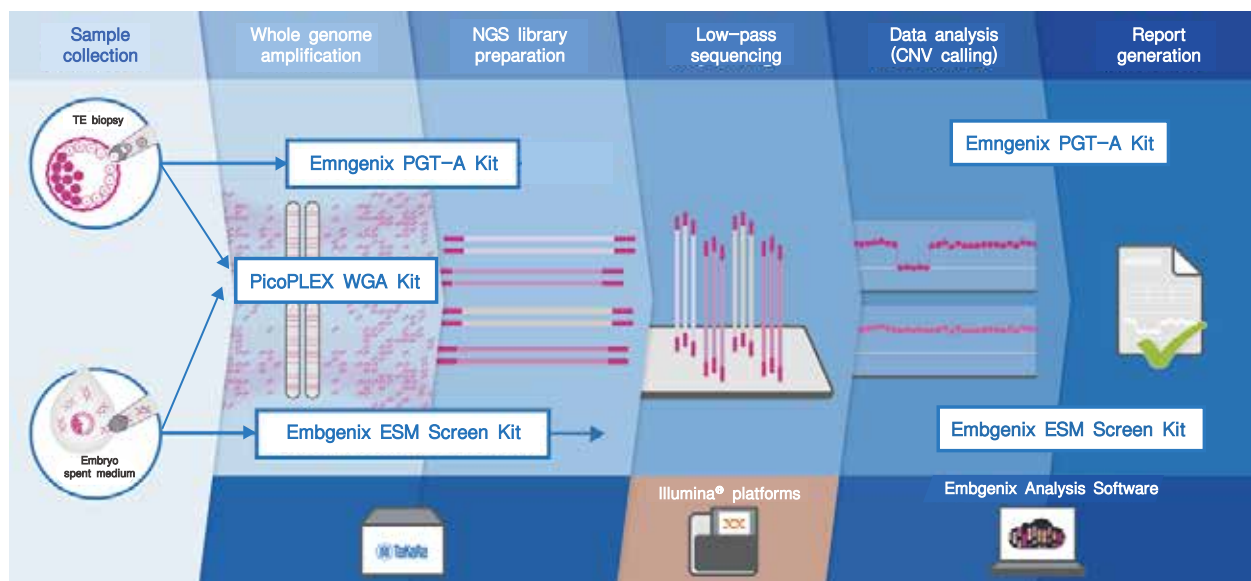
### Embgenix™ PGT-A Kit (RUO)

- **完整的PGT-A分析流程**，包含全基因组扩增，文库构建以及染色体非整倍体分析步骤
- 可用于**滋养层胚胎(TE)活检样本**进行PGT-A验证
- 可以使用**Embgenix Analysis Software (RUO)** 进行数据分析

# ESM样本的CNV评估解决方案

## Embgenix™ ESM Screen Kit

- 包含对低起始量和片段化DNA的全基因组扩增、文库构建以及CNV评估分析步骤
- 旨在对体外受精（IVF）周期内收集的**非侵入性样品**，比如**胚胎培养液（ESM）**以及**囊胚腔液**，进行CNV评估
- 可以使用**Embgenix Analysis Software (RUO)**对非侵入性样品进行数据分析



Code No.	产品名称	包装量
R30050	PicoPLEX WGA Kit	50 次
R300644		500 次
634760	Embgenix™ PGT-A Kit (RUO)	96 次
634782	Embgenix™ ESM Screen Kit	96 次



## 非洲猪瘟病毒检测解决方案

非洲猪瘟病毒（African Swine Fever Virus, ASFV）是一种古老的、高度传染的、能够使家猪和野猪致死的病毒，2018年8月中国确诊首例非洲猪瘟疫情开始，一年多的时间，非洲猪瘟已经席卷了黑龙江、江苏、浙江、内蒙古、辽宁、山西等33个省份，给养殖业带来了巨大损失。

根据最新的研究进展，中科院饶子和院士解析出非洲猪瘟病毒“俄罗斯套娃”似的5层结构，包含3万余个蛋白亚基，这一成果为开发有效的新型非洲猪瘟疫苗奠定了坚实基础。

现阶段，非洲猪瘟疫苗的研发仍在进行中，通过实验室检测，对非洲猪瘟病毒进行快速、可靠的早期诊断，对于防止疫病的传播是非常重要和必要的。根据2018年8月中国动物卫生与流行病学中心和中国动物疫病预防控制中心编制的《非洲猪瘟病毒检测操作规程》，需要使用实时荧光定量PCR方法对非洲猪瘟病毒进行检测。

Takara作为分子生物学试剂行业内的重要一员，多年来持续不断地为中国各科研院校、检验检疫单位和各种检测机构提供性能稳定、高效高质量的研究用试剂，受到广大生物学家研究人员的支持和好评。Takara可以提供从探针、引物合成到定量PCR检测的多种灵活的非洲猪瘟病毒ASFV检测解决方案。

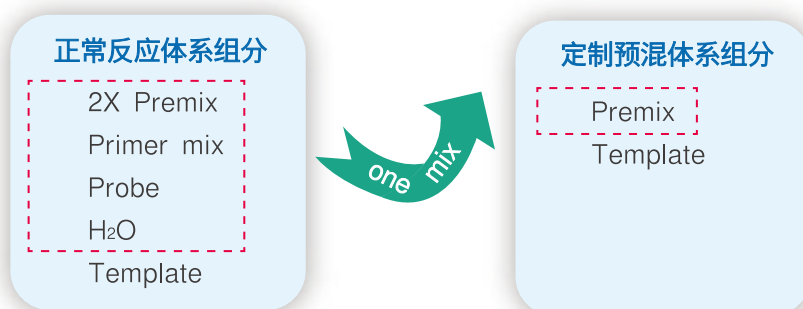
## Premix型产品定制及新品联合开发

qPCR产品已经成为病原体检测，疾病筛查、鉴定等需求的重要检测手段，方便、易于操作的产品也成为了新品开发的主流趋势，其中premix型试剂因其操作便捷性备受青睐。

Takara可以按客户需求免费为客户定制开发预混Primer/Probe的qPCR产品——只需加入模板即可进行检测，大大简化了操作过程，降低对操作人员的要求。

### 定制特点：

#### ■ 体系简化



#### ■ 案例数据验证：

已验证数据	需求场景
冻融10次稳定	运输过程中存在试剂融化的可能或存在试剂一次用不完的可能
4℃ 7天保存稳定	较多样品检测时，可操作时间较长或者较短时间内频繁使用，希望试剂在4℃短期放置

同时，Takara也可以利用自身多年的产品开发经验，与客户携手联合开发客户所需产品。详细信息请发送邮件至[Bulkorder@takarabiomed.com.cn](mailto:Bulkorder@takarabiomed.com.cn)咨询。

## 探针引物设计合成服务

无需提取一步法qPCR解决方案

粗提样本qPCR解决方案

纯化核酸qPCR解决方案

## 非洲猪瘟病毒 (ASFV) 检测用引物、探针设计合成

根据2003年发表于《Journal of Virological Methods》期刊的文献《Development of a TaqMan PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus》，探针法定量PCR扩增ASFV的主要免疫原基因VP72的3'保守区，PCR引物和探针序列如下表。

已有众多客户在Takara合成下述序列用于ASFV的定量PCR检测。

序号	Oligo名称	碱基序列* (5' to 3'方向)	碱基数	5'修饰	3'修饰
01	ASFV-引物F	CTG CTC ATG GTA TCA ATC TTA TCG A	25		
02	ASFV-引物R	GAT ACC ACA AGA TC(AG) GCC GT	20		
03	ASFV-探针P	CCA CGG GAG GAA TAC CAA CCC AGT G	25	FAM	TAMRA

## 无需提取·直接qPCR

血液、尿液、粪便、细胞等直接进行一步法RT-qPCR

PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix (or with UNG) (Code No. RR650/RR651)

**PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix (or with UNG) (Code No. RR650/RR651)** 是基于探针法检测的一步法Real Time RT-qPCR试剂。本制品为2X premix型试剂，只需添加用于检测目的基因的引物、探针和模板即可进行反应。由于本制品在反应液中能够直接从生物样本中提取核酸，对于含有RNA病毒等的生物样品，可直接添加到反应液中进行Real Time RT-qPCR反应。由于核酸提取、反转录、qPCR各反应连续进行，大大提高了操作简便性，减少了反应时间。

## 特点:



探针法One Step RT-qPCR premix试剂



血液、尿液等样品无需RNA纯化也可进行Real Time RT-qPCR

通过UNG<sup>\*</sup>的作用，可以有效防止carryover contamination产生的假阳性

\*使用PrimeDirect Probe RT-qPCR Mix, with UNG (Code No. RR651) 时

用途	产品名称	Code No.	包装量*
无需RNA纯化，直接进行probe法One Step RT-qPCR	PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix	RR650A	200 次 (25 μl反应)
RR650的UNG版本，防止假阳性	PrimeDirect® Probe RT-qPCR Mix, with UNG	RR651A	200 次 (25 μl反应)

\*: 其他包装定制可商谈。

## 样本粗提 & qPCR

样本DNA快速提取 MightyPrep reagent for DNA (Code No. 9182) \*1

+ 阻害物抵抗性高的qPCR试剂 Probe qPCR Mix (Code No. RR391A) \*2

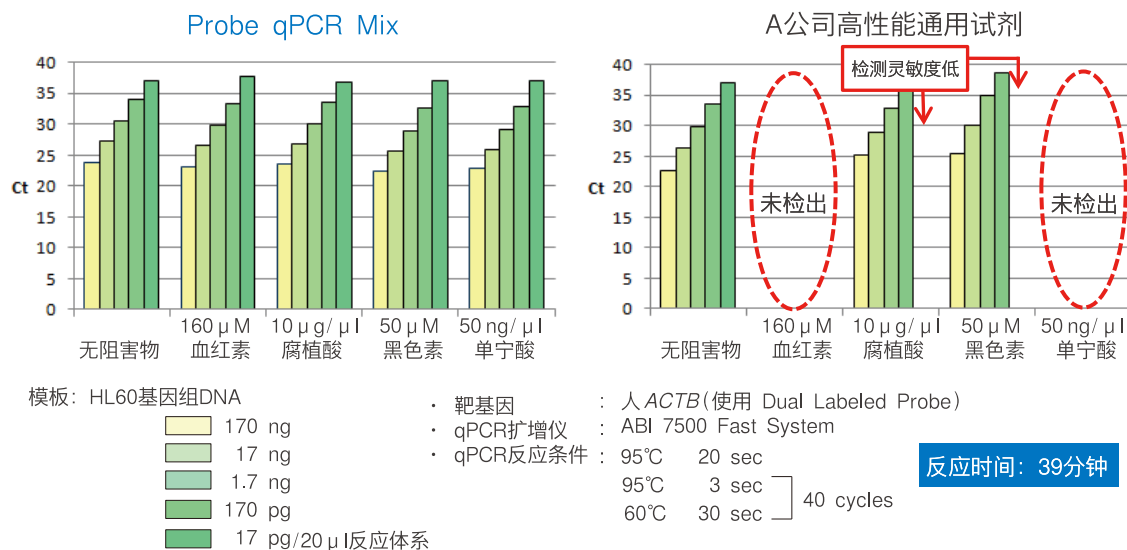
\*1: 产品介绍请见第1页。

\*2: 2019年6月, 中国动物疫病预防控制中心公布认可的非洲猪瘟快检试剂生产企业中, 部分企业使用了该方案作为ASFV检测试剂盒的原料。

**Probe qPCR Mix (Code No. RR391A)** 是采用探针法进行Real Time PCR (qPCR) 检测的试剂。通过对添加了抗体的Hot Start PCR酶和Real Time qPCR用Buffer分别进行改良, 实现了PCR阻害物抵抗性高、扩增特异性高、扩增效率高、检测灵敏度高。

### 实验例: 各种PCR阻害物对Ct值的影响评价

已知血红素(血液成分)、腐植酸(土壤成分)、黑色素(皮肤和毛发成分)、单宁酸(植物成分)对PCR反应有很强的阻害作用, 对在PCR反应中添加PCR阻害物的反应体系和未添加PCR阻害物的反应体系进行了Ct值比较。



【结论】本制品同其他公司同类制品相比, 对PCR阻害物的抵抗性明显提高, 使用目前为止不能获得良好反应结果的检测样品也能够期待获得高成功率、高检测灵敏度的PCR反应。

用途	产品名称	Code No.	包装量*
抗阻害物probe法qPCR试剂	Probe qPCR Mix	RR391A	200 次 (50 μl 反应)
RR391的UNG版本, 防止假阳性	Probe qPCR Mix, with UNG	RR392A	200 次 (50 μl 反应)
样本DNA粗提试剂	MightyPrep reagent for DNA	9182	20 ml

\*: 其他包装定制可商谈。

## 核酸提取 & qPCR

### 病毒核酸提取

TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0 (Code No. 9765)

TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0 (Code No. 9766)



### 探针法/染料法qPCR试剂

Probe qPCR Mix MultiPlus (Code No. RR393) \*

TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820) \*

\*2019年6月，中国动物疫病预防控制中心公布认可的非洲猪瘟快检试剂生产企业中，部分企业使用了该方案作为ASFV检测试剂盒的原料。

### TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0 (Code No. 9766)

是专门用于从血浆、全血、无细胞体液、病毒原液和感染病毒的组织中提取各种病毒 (Virus) RNA/DNA的小量纯化试剂盒，具有高效、快速、方便之特点，病毒裂解后，提取操作仅需20分钟便可完成。

### 探针法多重qPCR试剂Probe qPCR Mix MultiPlus (Code No. RR393)

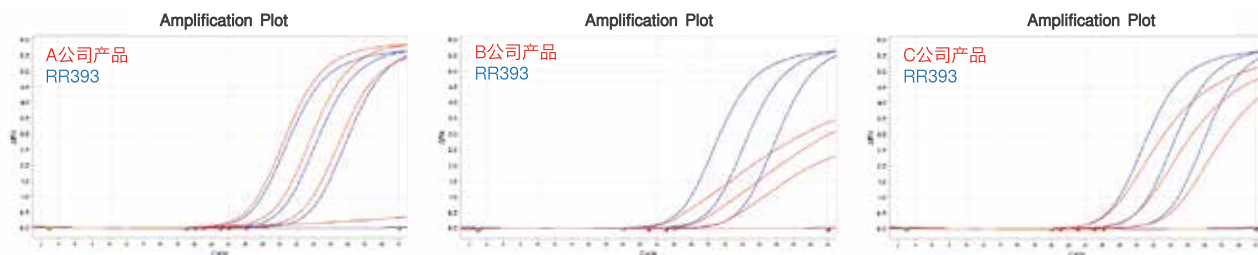
采用5' -核酸酶法的探针检测专用Real Time PCR (qPCR) 试剂。通过分别对添加了抗体的Hot Start PCR酶和Real Time PCR用Buffer进行改良，实现了在宽广的动态范围内高速、高特异性的扩增。

#### 特长

1. 探针检测专用2× Premix qPCR试剂。
2. 改良型Hot Start PCR酶和PCR缓冲液，可进行快速反应。
3. 支持多重qPCR检测。
4. Tli RNaseH和UNG可抑制qPCR反应产生的假阳性。

#### 扩增能力的比较

使用MGB探针检测RR393与其他公司产品扩增HCV基因的效果。

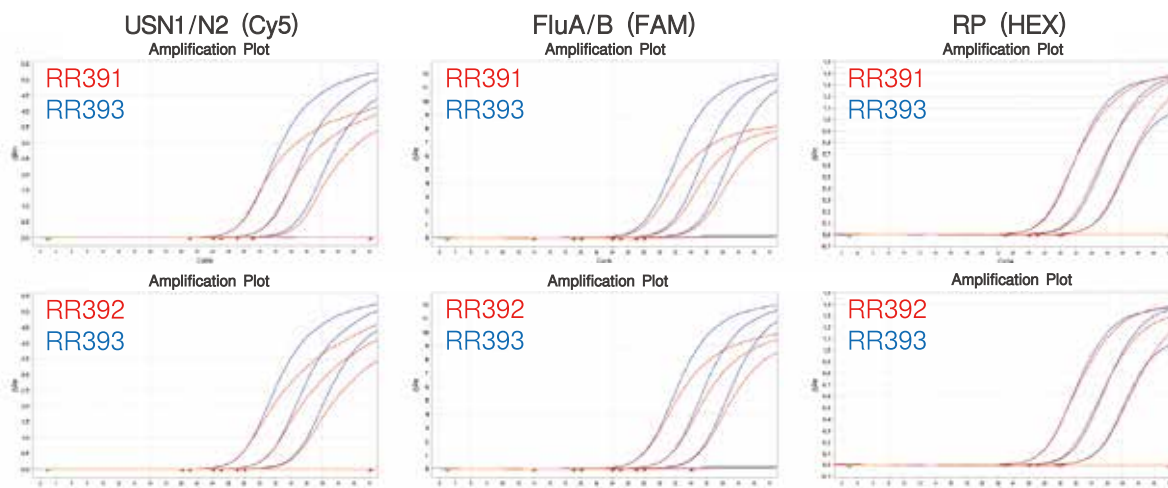


【结果】与其他公司产品相比，RR393的Ct值及信噪比更好或持平。



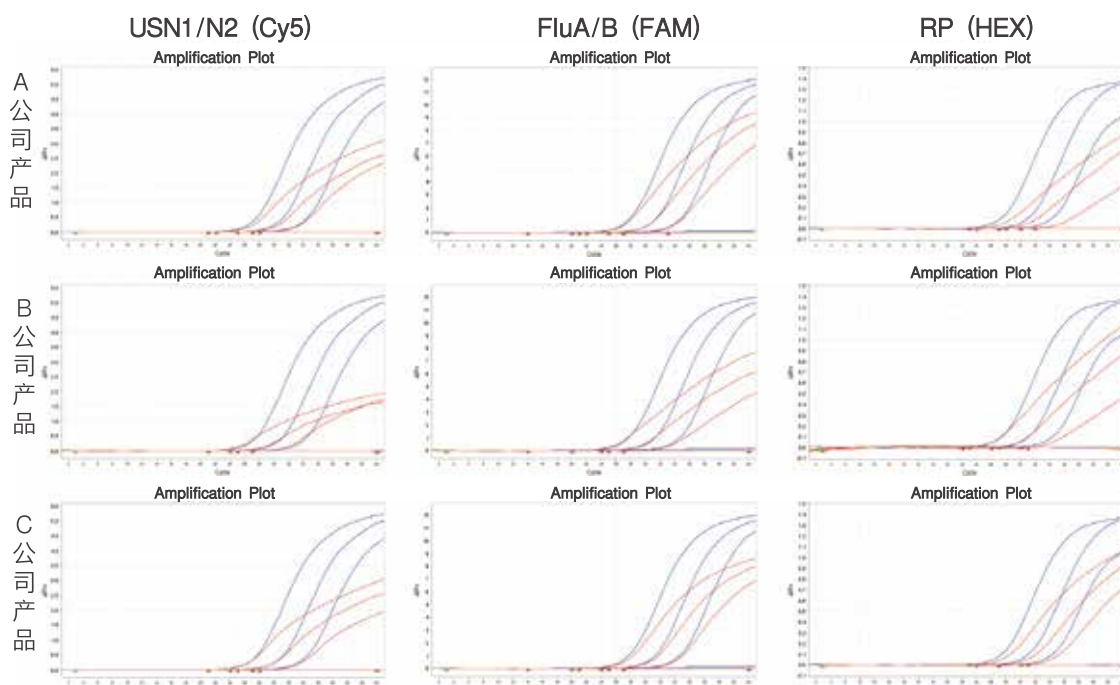
## 多重qPCR能力的比较

(1) 使用RR393与以往产品 (RR391 & RR392) 进行Multiplex (多重) 检出能力比较 (目的基因: USN1/N2 & FluA/B & RP)。



【结果】与以往产品相比，RR393的Ct值及信噪比更优。

(2) 使用RR393 (蓝色) 与其他公司产品 (红色) 进行Multiplex检出能力比较 (目的基因: USN1/N2 & FluA/B & RP)



【结果】与其他公司产品相比，RR393的Ct值及信噪比明显更优。

用途	产品名称	Code No.	包装量*
高性价比probe法qPCR试剂	Probe qPCR Mix MultiPlus	RR393S	80 次 (25 $\mu$ l反应)
		RR393A	400 次 (25 $\mu$ l反应)
		RR393B	800 次 (25 $\mu$ l反应)
特异性强染料法qPCR试剂	TB Green® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)	RR820A	200 次 (50 $\mu$ l反应)
基因组DNA提取试剂	TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver.5.0	9765	50 次
病毒RNA/DNA提取试剂	TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0	9766	50 次

\*: 其他包装定制可商谈。

## 其他关联产品推荐

Takara可以提供包括环境处理、Carryover污染处理、核酸提取、RNA体外转录、荧光定量PCR各组分在内的完整的病毒检测解决方案。

产品名称	Code No.	包装量	用途
DNA-OFF®	9036	500 ml	去除实验区域DNA污染
RNase-OFF®	9037	500 ml	去除RNase污染
TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0	9766	50 次	柱式法病毒核酸提取
RNAiso Plus	9108	100 ml	试剂型Total RNA提取
Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H-)	2641A	10,000 U	高性价比的反转录酶
Recombinant RNase Inhibitor	2313A	5,000 U	RNase抑制剂
Uracil DNA Glycosylase (UNG), heat-labile	2820	200 U	防止Carryover污染导致的假阳性
dU plus dNTP Mixture (12.5 × )	4035	800 µl	防止Carryover污染导致的假阳性
dNTP Mixture	4030	各3.2 µmol/1.28 ml	PCR底物
T7 RNA Polymerase	2540A	5,000 U	RNA体外转录
RNase-free Water	9012	1 ml × 10 支	RNA实验用水
One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	RR064A	100次 (50 µl反应)	probe法One Step RT-qPCR
One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix	RR600A	200 次 (25 µl反应)	完全premix型probe法One Step RT-qPCR
One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix, with UNG	RR601A	200 次 (25 µl反应)	RR600的UNG版本, 防止假阳性
TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR	CN830S	80 次 (25 µl反应)	染料法快速qPCR
	CN830A	400 次 (25 µl反应)	
Fast Probe qPCR mix	TCH005	200 次 (50 µl反应)	探针法快速qPCR
Fast Probe qPCR mix, with UNG	TCH006	200 次 (25 µl反应)	
Fast One Step Probe RT-qPCR Mix	TCH007	200 次 (25 µl反应)	探针法快速RT-qPCR
Fast One Step Probe RT-qPCR Mix, with UNG	TCH008		

## qPCR检测仪器

### 96孔快速定量PCR仪

#### Thermal Cycler Dice™ Real Time System III



- 搭载FAM、ROX/Texas Red两种荧光检测通道 (可追加HEX/VIC、Cy5通道)
- 采用LED作为光源, 寿命更长
- 支持快速PCR反应, 反应时间大幅缩短
- 支持单机触屏操作

Code No.	产品名称
TP950	Thermal Cycler Dice™ Real Time System III
TP970	Thermal Cycler Dice™ Real Time System III with PC
TP990	Thermal Cycler Dice™ Real Time System III (Cy5) with PC



## Oligo合成服务

Takara已经有三十多年合成Oligo DNA/RNA的历史。不仅在合成常规Oligo DNA/RNA方面，而且在合成各种修饰与标记DNA与RNA方面积累了丰富的经验。我们的制品以性能优良、质量稳定受到广大科研工作者及工业客户的青睐。

伴随分子诊断的快速发展，对于核酸检测的准确度与灵敏度要求越来越高，因此对合成Oligo的质量提出更高的要求。Takara采用国际上先进的合成技术，使用高质量的合成试剂，严格按照国家标准生产各种纯化级别的制品。采用ISO质量管理体系，严格管理整个生产过程，执行高标准的质量控制，保证每批次产品的质量稳定性。

Takara目前合成的修饰品种多达200多种，并且可以根据客户的需求继续增加修饰品目，应对核酸检测市场的不同需求。Takara推出定制化生产线，同时也对客户特殊染料提供定制修饰服务。

基于多年服务于工业客户的经验，Takara完善从生产能力到制品包装的工业化要求。为了更好地服务于工业客户，完成了合成量从“微克”级别到“克”级别的升级，并且附带完整的文件，满足工业客户的溯源需求。

- ☆ 原料控制：所有合成用重要原料均采购自国外知名供应商，全球采购系统从源头上进行了有效的保障，并对重要原料建立了完善的来源检查方法和标准；
- ☆ 生产过程控制：按照ISO标准化管理，全程按照受控文件作业，合成中心全部实施5S管理；
- ☆ 质量控制：完善的QC检测流程及标准，除了对最终产品进行ESI-Mass、HPLC、PAGE、OD定量以及外观检查外，在生产过程中还进行必要的IPQC，有效控制批间差，确保质量持续稳定；
- ☆ 认证体系：宝生物工程（大连）有限公司于2015年1月5日通过ISO9001认证，于2019年3月26日通过ISO13485认证；
- ☆ 客户支持：Takara致力于生命科学研究和诊断相关产品的研发和生产，依托强大的技术团队和多年以来丰富的Oligo合成服务经验，给国内外客户提供优质的售前和售后支持。

### 【DNA/RNA合成制品技术咨询和售后服务】

电话：0411-87632430

邮箱：oligo\_support@takara.com.cn

## Oligo合成种类

### 1. DNA、RNA修饰

DNA长度：2-160 mer

RNA长度：2-110 mer

我们还可以合成5'修饰、3'修饰和中间修饰，包括S代修饰、连接臂（Spacer）、氨基修饰、磷酸化修饰、SH(Thiolation)、Locked Nucleic Acid、修饰碱基等。

### 2. 双标记荧光探针

5'标记	3'标记
FAM, TET, JOE, HEX, VIC-X	TAMRA
FAM, TET, JOE, HEX, VIC-X	BHQ1
TAMRA, ROX, Texas Red, Cyanine 3, Cyanine 5	BHQ2
Cyanine 5	BHQ3
FAM, TET, JOE, HEX, VIC-X, TAMRA, ROX, Cyanine 3, Cyanine 5	MGB-E

### 3. 分子信标

5'标记	3'标记
FAM, TET, JOE, HEX, VIC-X, TAMRA, ROX, Cyanine 5	DABCYL/BHQ

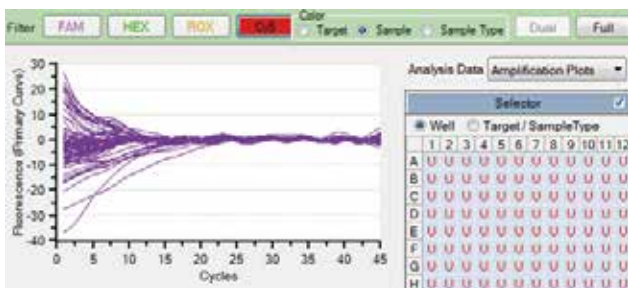
\* 目前Takara合成的修饰种类可达200余种，基本覆盖整个光谱区域。

## 防污染

防污染类型	能达到的标准
防外源模板污染	在洁净环境中进行产品的制造和分装，能够有效避免外源模板污染，达到200 NTC，0检出率
防交叉污染	进行严格的标准化操作，交叉污染率低于万分之一
防游离染料污染	痕量残留的染料不影响实验结果判定

### ☆ 防污染例

#### 1. 防外源模板污染：200 NTC无污染



#### 2. 防交叉污染：

标准：HPLC清洗引入交叉污染标准 $\leq 1\%$ ，

Takara最高级别的防交叉污染，可达到下表的标准：

精制方法	交叉污染率
探针小量制备	<0.001%
引物小量制备	<0.003%
探针大量制备	<0.001%
引物大量制备	<0.003%

### 包装定制、检测小样：

Takara为满足客户需求，对IVD客户可以提供各种定制包装形式的产品，例如tube、plate等，根据客户需要提供检测用小样（与大包装样品为相同lot分注的制品）：

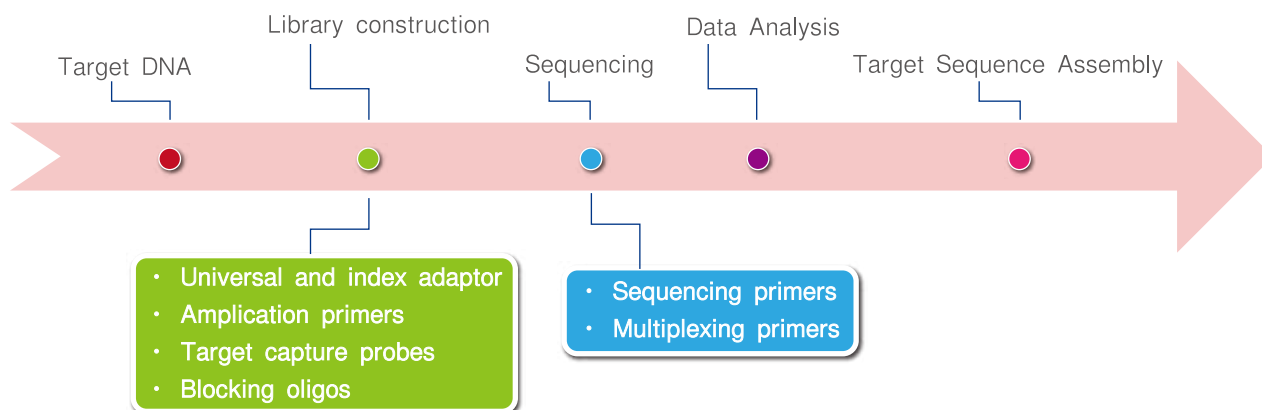
- ☆ 产品交付量：nmol级~克级
- ☆ 指定浓度
- ☆ 按要求分装
- ☆ 可提供离心管、广口瓶、96孔板多种包装

## NGS Oligo (Next Generation Sequencing oligo)

下一代测序 (NGS) 技术迅速发展, 正逐渐成为遗传学研究和发现领域不可或缺的一部分。该技术不仅广泛应用于遗传分析, 而且加速推进在研究、临床和应用市场领域的进展。高纯度高质量的NGS Oligo是您获得准确的NGS实验结果的基础, Takara Oligo合成技术团队, 集多年Oligo合成的丰富经验, 致力于提供高质量的NGS Oligo, 制品均经过质谱分析和PAGE检测, 有效监控质量, 提供放心保证。

- 专门的设备和经验丰富的技术人员
- 特别的防污染工艺, 有效防止交叉污染
- 100%进行PAGE检测和质谱分析, 切实监控样品准确性和纯度
- 96 well Plate 或者离心管包装任选, 方便使用

除了接头(adaptor)以外, 测序平台还使用其它Oligo, 例如Amplification primers等, 它们对交叉污染的要求没有接头(adaptor)高, 因此, 按照常规Oligo进行定制即可。



## Real Time PCR用引物探针设计服务

本公司对NCBI Data Base 上登录的Human、Mouse、Rat、Cow、Dog、Chicken、Arabidopsis、Oryza 的RefSeq 的绝大部分mRNA序列提供引物设计及合成服务。

为方便客户自主选择设计引物, Takara qPCR引物/探针设计工具在Takara公司网站上线, 订购Takara的qPCR产品, 可免费使用Perfect Real Time Support System (PRTSS) 进行引物/探针设计, 每个qPCR产品免费设计一次, 获得一个基因的引物或引物探针。详细信息请浏览Takara公司网站主页。

使用提供的引物, 利用本公司的Real Time PCR试剂和推荐的标准反应条件, 可以得到理想的实验结果, 无需进行  $Mg^{2+}$ 浓度和退火温度等反应条件优化实验。

我们同时还提供MGB-E、Locked Nucleic Acid等探针设计服务, 对于SNP检测或设计条件不佳的情况, 可以通过修饰MGB-E或Locked Nucleic Acid来缩短探针长度, 获得具有较为理想 $T_m$ 值的探针, 满足客户更为多样的需求。

## Oligo定量说明

在Oligo定量的过程中，由于设备和计算方法不同会造成结果的偏差。为此，Takara进行了一系列研讨，旨在找出合适的测定方法，以获得更为准确的测定数据。

### 1、样品的稀释

#### 1) 根据标签信息将样品稀释至100 $\mu\text{M}$ ：

将干粉配制成100  $\mu\text{M}$ 溶液，加入溶剂的体积为V

$$V(\mu\text{l}) = \text{nmol数} \times 10$$

#### 2) 测定前，根据测量设备的要求，进一步稀释至合适浓度。

如采用NanoDrop系列设备进行测定：建议将测定样品终浓度稀释至10  $\mu\text{M}$

如采用UV法进行测定：建议将测定样品终浓度稀释至2  $\mu\text{M}$

### 2、Primer & Probe测定

设备	Primer		Probe	
	UV法	NanoDrop	UV法	NanoDrop
模式	—	Nucleic Acid	—	Micro Array
Type	—	ssDNA	—	ssDNA
Dye/Chrom . Editor	—	—	—	添加修饰基团信息（见下表）
Dye1	—	—	—	选择标记的荧光基团

#### ☆ 常见荧光基团的摩尔消光系数及吸收波长列表

荧光基团	Coeff.(l/mole-cm)/ 摩尔消光系数	Analysis Wavelength(nm)/ 吸收光波长
FAM	20960	494
HEX	31600	533
ROX	22600	587
ATTO488	12600	501
JOE	20100	520
TAMRA	29100	560
TEXAS RED	14400	595
TET	16300	521
BHQ1	8000	534
BHQ2	8000	579
BHQ3	13000	680
MGB-E	55700	522

### 保存稳定性数据

对Oligo干品或溶液状态（TE或Milli-Q水溶解）制品，在不同保存温度、冻融状态和运输条件下的稳定性进行了验证，为客户保存提供了理论依据。

样品种类	稀释buffer	终浓度	保存温度	保存时间
Primer/ probe	TE(10:0.1) pH8.0	10 $\mu\text{M}$	-20°C	24 months
	Milli-Q水	100 $\mu\text{M}$	-20°C	24 months
	干品	—	-20°C	24 months

## 相关法规要求

样品种类	项目	国标要求	Takara标准	
Primer	外观及性状	半透明或不透明的片状粉状物	半透明或不透明的片状粉状物	
	引物探针的总量	相对误差 $\leq 10\%$	相对误差 $\leq 10\%$	
	相对分子质量	相对误差 $\leq 0.05\%$	相对误差 $\leq 0.05\%$ (500 ppm)	
	碱基准确性	合成序列与定制序列100%匹配	合成序列与定制序列100%匹配	
	纯度	脱盐级primer	HPLC纯度 $\geq 75\%$	PAGE QC主带清晰 (HPLC纯度 $\geq 75\%^{*1}$ )
		OPC级primer	HPLC纯度 $\geq 85\%$	PAGE QC主带清晰 (HPLC纯度 $\geq 85\%^{*1}$ )
PAGE级primer		HPLC纯度 $\geq 90\%$	PAGE级单一主带 (HPLC纯度 $\geq 90\%^{*1}$ )	
HPLC级primer		HPLC纯度 $\geq 95\%$ (特殊序列 $\geq 90\%^{*2}$ )	HPLC纯度 $\geq 95\%$ (特殊序列 $\geq 90\%^{*2}$ )	
Probe	外观及性状	半透明或不透明的片状粉状物	半透明或不透明的片状粉状物	
	引物探针的总量	相对误差 $\leq 10\%$	相对误差 $\leq 10\%$	
	相对分子质量	相对误差 $\leq 0.05\%$	相对误差 $\leq 0.05\%$ (500 ppm)	
	碱基准确性	合成序列与定制序列100%匹配	合成序列与定制序列100%匹配	
	修饰基团准确性	修饰基团与定制序列完全一致	修饰基团与定制序列完全一致	
	纯度	HPLC纯度 $\geq 95\%$ (特殊序列 $\geq 90\%^{*2}$ )	HPLC纯度 $\geq 95\%$ (特殊序列 $\geq 90\%^{*2}$ )	

\*1: Takara承诺标准, 但是合格证中不体现该项检测内容, 如需该项检测结果, 另外收取费用;

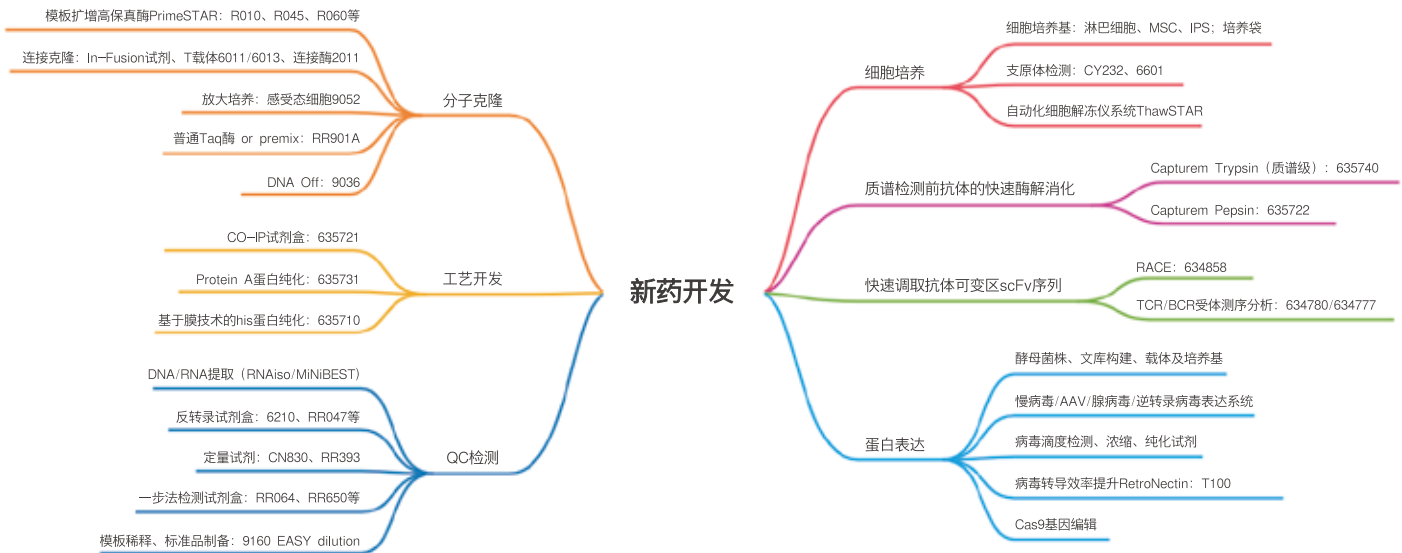
\*2: 特殊序列包括: 当碱基数 $\geq 41$ , 或引物有修饰, 或GC% $\geq 70\%$ , 或序列中有连续5个G以上, 或RNA制品。

**Oligo Data Sheet:** 随制品同时发送包含下述内容的数据表。ODS例:

Mfg. ID		Name	Sequence(5'-3')	Size	MW	T <sub>m</sub> (°C)	$\epsilon$ (L/mol.cm)	%GC	nmols	$\mu$ g	OD/pc
CIPF999-01		GAPDH F	5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3'	21	6557.3	64.4	209200	52	9.6	62.7	2.0
CIPF999-02		GAPDH R	5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'	23	7118.7	57.3	232900	43	8.6	61.1	2.0

★ 包含序列信息、GC含量、分子量、T<sub>m</sub>值、摩尔消光系数、nmols数以及OD/PC等数据, 方便客户使用。

# 助力新药研发



Clontech TAKARA cellartis

**销售商**

宝日医生物技术（北京）有限公司

地址: 北京市昌平区科学园路 22 号 (中关村生命科学园内)  
电话: 010-80720985, 80720986

**制造商**

宝生物工程（大连）有限公司

地址: 辽宁省大连市经济技术开发区东北二街 19 号  
电话: 0411-87621671

官网地址: <https://www.takarabiomed.com.cn>

技术咨询热线: 4006518761, 4006518769

技术咨询邮箱: [service@takarabiomed.com.cn](mailto:service@takarabiomed.com.cn)



Takara微信



Takara微博



Takara官网

- 本宣传页上登载的制品, 都是以科研为目的。请不要用于其它方面, 如: 不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可, 严禁产品的转售· 转让、以转售· 转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认: <https://www.takarabiomed.com.cn>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注, 使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用, 其他地区客户请咨询当地代理商。
- 本宣传页上记载的产品信息是2024年1月1日的信息, 最新信息请参考公司官网。